

25.02.99

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 16 APR 1999

WIPO PCT

EASU

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1998年 2月27日

出 願 番 号

Application Number:

平成10年特許願第046607号

出 願 人

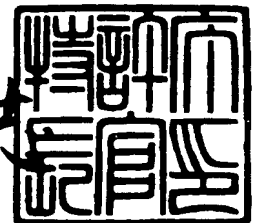
Applicant (s):

財団法人相模中央化学研究所
株式会社プロテジーンPRIORITY
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 4月 2日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

山 佐 健 志



出証番号 出証特平11-3019483

【書類名】 特許願

【整理番号】 S018148

【提出日】 平成10年 2月27日

【あて先】 特許庁長官殿

【発明の名称】 膜貫通ドメインを有するヒト蛋白質とそれをコードする
DNA

【請求項の数】 6

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県相模原市若松 3-46-50

 【氏名】 加藤 誠志

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都葛飾区高砂 5-13-11

 【氏名】 山口 知子

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県相模原市西大沼 4-4-1

 【氏名】 関根 伸吾

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県綾瀬市小園南 2-20-6

 【氏名】 中村 修子

【特許出願人】

 【代表出願人】

 【識別番号】 000173762

 【住所又は居所】 神奈川県相模原市西大沼 4丁目4番1号

 【氏名又は名称】 財団法人相模中央化学研究所

 【代表者】 近藤 聖

 【電話番号】 0427(42)4791

【特許出願人】

 【識別番号】 596134998

 【住所又は居所】 東京都目黒区中町 2丁目20番3号

【氏名又は名称】 株式会社プロテジーン

【代表者】 棚井 丈雄

【電話番号】 03(3792)1019

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 011501

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 膜貫通ドメインを有するヒト蛋白質とそれをコードするDNA

【特許請求の範囲】

【請求項1】 配列番号1から配列番号7で表されるアミノ酸配列のいずれかを含む蛋白質。

【請求項2】 請求項1記載の蛋白質のいずれかをコードするDNA。

【請求項3】 配列番号8から配列番号14で表される塩基配列のいずれかを含むcDNA。

【請求項4】 配列番号15から配列番号21で表される塩基配列のいずれかからなる、請求項3記載のcDNA。

【請求項5】 請求項2から請求項4記載のいずれかのDNAをインビトロ翻訳あるいは真核細胞内で発現しうる発現ベクター。

【請求項6】 請求項2から請求項4記載のいずれかのDNAを発現し、請求項1記載の蛋白質を生産しうる形質転換真核細胞。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、膜貫通ドメインを有するヒト蛋白質、それをコードしているcDNA、該cDNAの発現ベクター、および該cDNAを発現させた真核細胞に関する。本発明の蛋白質は、医薬品として、あるいは該蛋白質に対する抗体を作製するための抗原として用いることができる。本発明のヒトcDNAは、遺伝子診断用プローブや遺伝子治療用遺伝子源として用いることができる。また、該cDNAがコードしている蛋白質を大量生産するための遺伝子源として用いることができる。これら膜蛋白質遺伝子を導入して膜蛋白質を大量発現させた細胞は、対応するリガンドの検出、新しい低分子医薬のスクリーニングなどに利用できる。

【0002】

【従来の技術】

膜蛋白質は、シグナルレセプター、イオンチャネル、トランスポーターなどとして、細胞膜を介する物質輸送や情報伝達において重要な役割を担っている。

例えば、各種サイトカインに対するレセプター、ナトリウムイオン・カリウムイオン・塩素イオン等に対するイオンチャンネル、糖・アミノ酸等に対するトランスポーターなどが知られており、その多くはすでに遺伝子もクローン化されている。

【0003】

これらの膜蛋白質の異常は、これまで原因不明であった多くの病気と関連していることがわかってきた。例えば、嚢胞性線維症の原因遺伝子として12個の膜貫通ドメインを有する膜蛋白質の遺伝子が同定された[Rommens, J. M. et al., Science 245:1059-1065 (1989)]。また、いくつかの膜蛋白質は、ウイルスが細胞に感染する際のレセプターとして働いていることがわかってきた。例えば、HIV-1は、T細胞膜上の膜蛋白質、CD4抗原と7個の膜貫通ドメインを有する膜蛋白質ヒュージンを介して細胞内に感染することが示された[Feng, Y. et al., Science 272:872-877 (1996)]。従って、新しい膜蛋白質が見い出せれば、多くの病気の原因解明につながるものと期待され、膜蛋白質をコードする新たな遺伝子の単離が望まれている。

【0004】

従来、膜蛋白質は、精製することが困難なので、遺伝子の方からのアプローチによって単離されたものが多い。一般的な方法は、cDNAライブラリーを真核細胞に導入して、cDNAを発現させたのち、目的とする膜蛋白質を膜上に発現している細胞を、抗体を用いる免疫学的な手法や膜の透過性の変化を生理学的な手法で検出する、いわゆる発現クローニングである。しかしこの方法では機能のわかった膜蛋白質の遺伝子しかクローン化できない。

【0005】

一般に膜蛋白質は、蛋白質内部に疎水性の膜貫通ドメインを有しており、リボソームで合成された後、このドメインがリン脂質膜内に留まり膜にトラップされる。従って、完全長cDNAの全塩基配列を決定してやり、そのcDNAがコードしている蛋白質のアミノ酸配列の中に疎水性の高い膜貫通ドメインが存在すれば、そのcDNAは膜蛋白質をコードしていると考えられる。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、膜貫通ドメインを有する新規のヒト蛋白質、該蛋白質をコードするDNA、該cDNAの発現ベクター、および該cDNAを発現しうる形質転換真核細胞を提供することである。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは鋭意研究の結果、ヒト完全長cDNAバンクの中から膜貫通ドメインを有する蛋白質をコードするcDNAをクローン化し、本発明を完成した。すなわち、本発明は膜貫通ドメインを有するヒト蛋白質である、配列番号1から配列番号7で表されるアミノ酸配列のいずれかを含む蛋白質を提供する。また本発明は上記蛋白質をコードするDNA、例えば配列番号8から配列番号21で表される塩基配列のいずれかを含むcDNA並びに該cDNAを発現しうる形質転換真核細胞を提供する。

【0008】

【発明の実施の形態】

本発明の蛋白質は、ヒトの臓器、細胞株などから単離する方法、本発明のアミノ酸配列に基づき化学合成によってペプチドを調製する方法、あるいは本発明の膜貫通ドメインをコードするDNAを用いて組換えDNA技術で生産する方法などにより取得することができるが、組換えDNA技術で取得する方法が好ましく用いられる。例えば、本発明のcDNAを有するベクターからインビトロ転写によってRNAを調製し、これを鋳型としてインビトロ翻訳を行なうことによりインビトロで蛋白質を発現できる。また翻訳領域を公知の方法により適当な発現ベクターに組換えてやれば、大腸菌、枯草菌等の原核細胞や、酵母、昆虫細胞、哺乳動物細胞等の真核細胞で、コードしている蛋白質を大量に発現させることができる。

【0009】

本発明の蛋白質を、インビトロ翻訳でDNAを発現させて生産させる場合には、該cDNAの翻訳領域を、RNAポリメラーゼプロモーターを有するベクター

に組換え、プロモーターに対応するRNAポリメラーゼを含む、ウサギ網状赤血球溶解物や小麦胚芽抽出物などのインビトロ翻訳系に添加してやれば、本発明の蛋白質をインビトロで生産することができる。RNAポリメラーゼプロモーターとしては、T7、T3、SP6などが例示できる。これらのRNAポリメラーゼプロモーターを含むベクターとしては、pKA1、pCDM8、pT3/T7 18、pT7/3 19、pBluescript IIなどが例示できる。また、反応系にイヌ臍臓ミクロソームなどを添加してやれば、本発明の膜蛋白質をミクロソーム膜に組み込まれた形で発現することができる。

【0010】

本発明の蛋白質を、大腸菌などの微生物でDNAを発現させて生産させる場合には、微生物中で複製可能なオリジン、プロモーター、リボソーム結合部位、cDNAクローニング部位、ターミネーター等を有する発現ベクターに、本発明のcDNAの翻訳領域を組換えた発現ベクターを作成し、該発現ベクターで宿主細胞を形質転換したのち、得られた形質転換体を培養してやれば、該cDNAがコードしている蛋白質を微生物内で大量生産することができる。この際、任意の翻訳領域の前後に開始コドンと停止コドンを付加して発現させてやれば、任意の領域を含む蛋白質断片を得ることができる。あるいは、他の蛋白質との融合蛋白質として発現させることもできる。該融合蛋白質を適当なプロテアーゼで切断することによって該cDNAがコードする蛋白質部分のみを取得することもできる。大腸菌用発現ベクターとしては、pUC系、pBluescript II、pET発現システム、pGEX発現システムなどが例示できる。

【0011】

本発明の蛋白質を、真核細胞でDNAを発現させて生産させる場合には、該cDNAの翻訳領域を、プロモーター、スプライシング領域、ポリ(A)付加部位等を有する真核細胞用発現ベクターに組換え、真核細胞内に導入してやれば、本発明の蛋白質を膜蛋白質として細胞膜表面上で生産することができる。発現ベクターとしては、pKA1、pCDM8、pSVK3、pMSG、pSVL、pBK-CMV、pBK-RSV、EBVベクター、pRS、pYES2などが例示できる。真核細胞としては、サル腎臓細胞COS7、チャイニーズハムスター卵

巢細胞CHOなどの哺乳動物培養細胞、出芽酵母、分裂酵母、カイク細胞、アフリカツメガエル卵細胞などが一般に用いられるが、本蛋白質を膜表面に発現できるものであれば、いかなる真核細胞でもよい。発現ベクターを真核細胞に導入するには、電気穿孔法、リン酸カルシウム法、リポソーム法、DEAEデキストラン法など公知の方法を用いることができる。

【0012】

本発明の蛋白質を原核細胞や真核細胞で発現させたのち、培養物から目的蛋白質を単離精製するためには、公知の分離操作を組み合わせて行うことができる。例えば、尿素などの変性剤や界面活性剤による処理、超音波処理、酵素消化、塩析や溶媒沈殿法、透析、遠心分離、限外濾過、ゲル濾過、SDS-PAGE、等電点電気泳動、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィーなどがあげられる。

【0013】

本発明の蛋白質には、配列番号1から配列番号7で表されるアミノ酸配列のいかなる部分アミノ酸配列を含むペプチド断片（5アミノ酸残基以上）も含まれる。これらのペプチド断片は抗体を作製するための抗原として用いることができる。また、本発明の蛋白質の中でシグナル配列を有するものは、シグナル配列が除去された後、成熟蛋白質の形で細胞表面に出てくる。したがって、これらの成熟蛋白質は本発明の蛋白質の範疇にはいる。成熟蛋白質のN末端アミノ酸配列は、シグナル配列切断部位決定法〔特開平8-187100〕を用いて容易に求めることができる。また、いくつかの膜蛋白質は、細胞表面でプロセッシングを受けて分泌型となる。このような分泌型となった蛋白質あるいはペプチドも本発明の蛋白質の範疇にはいる。アミノ酸配列の中に糖鎖結合部位が存在すると、適当な真核細胞で発現させれば糖鎖が付加した蛋白質が得られる。したがって、このような糖鎖が付加した蛋白質あるいはペプチドも本発明の蛋白質の範疇にはいる。

【0014】

本発明のDNAには、上記蛋白質をコードするすべてのDNAが含まれる。該DNAは、化学合成による方法、cDNAクローニングによる方法などを用いて取得することができる。

【0015】

本発明のcDNAは、例えばヒト細胞由来cDNAライブラリーからクローン化することができる。cDNAはヒト細胞から抽出したポリ(A)⁺RNAを鋳型として合成する。ヒト細胞としては、人体から手術などによって摘出されたものでも培養細胞でも良い。cDNAは、岡山-Berg法[Okayama, H. and Berg, P., Mol. Cell. Biol. 2:161-170 (1982)]、Gubler-Hoffman法[Gubler, U. and Hoffman, J., Gene 25:263-269 (1983)]などいかなる方法を用いて合成してもよいが、完全長クローンを効率的に得るためには、実施例にあげたようなキャッピング法[Kato, S. et al., Gene 163:193-196 (1995)]を用いることが望ましい。また市販のヒトcDNAライブラリーを用いることもできる。cDNAライブラリーから本発明のcDNAをクローン化するには、本発明のcDNAの任意の部分の塩基配列に基づいてオリゴヌクレオチドを合成し、これをプローブとして用いて、公知の方法によりコロニーあるいはブランクハイブリダイゼーションによるスクリーニングを行えばよい。また、目的とするcDNA断片の両末端にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを合成し、これをプライマーとして用いて、ヒト細胞から単離したmRNAからRT-PCR法により、本発明のcDNA断片を調製することもできる。

【0016】

本発明のcDNAは、配列番号8から配列番号14で表される塩基配列あるいは配列番号15から配列番号21で表される塩基配列のいずれかを含むことを特徴とするものである。それぞれのクローン番号(HP番号)、cDNAクローンが得られた細胞、cDNAの全塩基数、コードしている蛋白質のアミノ酸残基数をそれぞれ表1にまとめて示した。

【0017】

【表1】

表1

配列番号	HP番号	細胞	塩基数	アミノ酸 残基数
1、8、15	HP01434	胃癌	761	129
2、9、16	HP01512	胃癌	701	135
3、10、17	HP02080	Sa os-2	393	79
4、11、18	HP02239	胃癌	1033	144
5、12、19	HP02375	PMA-U937	1270	282
6、13、20	HP10517	肝臓	836	100
7、14、21	HP10521	肝臓	1022	225

【0018】

なお、配列番号8から配列番号21のいずれかに記載のcDNAの塩基配列に基づいて合成したオリゴヌクレオチドプローブを用いて、本発明で用いたヒト細胞株やヒト組織から作製したcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、本発明のcDNAと同一のクローンを容易に得ることができる。

【0019】

一般にヒト遺伝子は個体差による多型が頻繁に認められる。従って配列番号8から配列番号21において、1又は複数個のヌクレオチドの付加、欠失および／又は他のヌクレオチドによる置換がなされているcDNAも本発明の範疇にはいる。

【0020】

同様に、これらの変更によって生じる、1又は複数個のアミノ酸の付加、欠失および／又は他のアミノ酸による置換がなされている蛋白質も、配列番号1から配列番号7で表されるアミノ酸配列を有するそれぞれの蛋白質の活性を有する限り、本発明の範疇に入る。

【0021】

本発明のcDNAには、配列番号8から配列番号14で表される塩基配列あるいは配列番号15から配列番号21で表される塩基配列のいかなる部分塩基配列

を含むcDNA断片(10bp以上)も含まれる。また、センス鎖およびアンチセンス鎖からなるDNA断片もこの範疇にはいる。これらのDNA断片は遺伝子診断用のプローブとして用いることができる。

【0022】

【実施例】

次に実施例により発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの例に限定されるものではない。DNAの組換えに関する基本的な操作および酵素反応は、文献["Molecular Cloning. A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989]に従った。制限酵素および各種修飾酵素は特に記載の無い場合宝酒造社製のものを用了。各酵素反応の緩衝液組成、並びに反応条件は付属の説明書に従った。cDNA合成は文献[Kato, S. et al., Gene 150:243-250 (1994)]に従った。

【0023】

(1) ポリ(A)⁺RNAの調製

mRNAを抽出するためのヒト細胞として、ホルボールエステルで刺激した組織球リンホーマ細胞株U937(ATCC CRL 1593)、骨肉腫細胞株Saos-2(ATCC HTB 85)、手術によって摘出された胃癌組織並びに肝臓を用了。細胞株の培養は、常法に従って行った。

【0024】

ヒト細胞約1gを5.5Mグアニジウムチオシアネート溶液20ml中でホモジナイズした後、文献[Okayama, H. et al., "Methods in Enzymology" Vol. 164, Academic Press, 1987]に従い、総mRNAを調製した。これを20mMトリス塩酸緩衝液(pH7.6)、0.5MNaCl、1mMEDTAで洗浄したオリゴdTセルロースカラムにかけ、上掲文献に従いポリ(A)⁺RNAを得た。

【0025】

(2) cDNAライブラリーの作製

上記ポリ(A)⁺RNA10μgを100mMトリス塩酸緩衝液(pH8)に

溶解し、RNaseを含まないバクテリア由来アルカリホスファターゼ1単位を添加し、37℃で1時間反応させた。反応液をフェノール抽出後、エタノール沈殿を行ない、ペレットを50mM 酢酸ナトリウム (pH 6)、1mMEDTA、0.1% 2-メルカプトエタノール、0.01% Triton X-100 溶液に溶解した。これに、タバコ由来酸ピロホスファターゼ (エピセンターテクノロジーズ社製) 1単位を添加して、総量100 μ lで37℃1時間反応させた。反応液をフェノール抽出後、エタノール沈殿を行ない、ペレットを水に溶解し、脱キャップ処理したポリ (A)⁺RNA溶液を得た。

【0026】

脱キャップ処理したポリ (A)⁺RNA、DNA-RNAキメラオリゴヌクレオチド (5' - dG-dG-dG-dG-dA-dA-dT-dT-dC-dG-dA-G-G-A-3') 3nmolを50mMトリス塩酸緩衝液 (pH 7.5)、0.5mMATP、5mMMgCl₂、10mM 2-メルカプトエタノール、25%ポリエチレングリコール水溶液に溶解し、T4RNAリガーゼ50単位を添加し、総量30 μ lで20℃12時間反応させた。反応液をフェノール抽出後、エタノール沈殿を行ない、ペレットを水に溶解し、キメラオリゴキャップ付加ポリ (A)⁺RNAを得た。

【0027】

本発明者らが開発したベクターpKA1 (特開平4-117292号公報) をKpnIで消化後、末端転移酵素により約60個のdTテールを付加した。これをEcoRV消化して片側のdTテールを除去したものをベクタープライマーとして用いた。

【0028】

先に調製したキメラオリゴキャップ付加ポリ (A)⁺RNA 6 μ gを、ベクタープライマー1.2 μ gとアニールさせた後、50mMトリス塩酸緩衝液 (pH 8.3)、75mMKCl、3mMMgCl₂、10mMジチオスレイトール、1.25mMdNTP (dATP+dCTP+dGTP+dTTP) 溶液に溶解し、逆転写酵素 (GIBCO-BRL社製) 200単位を添加し、総量20 μ lで42℃1時間反応させた。反応液をフェノール抽出後、エタノール沈殿を行な

い、ペレットを50 mMトリス塩酸緩衝液 (pH 7.5)、100 mM NaCl、10 mM MgCl₂、1 mMジチオスレイトール溶液に溶解した。これにEcoRI 100単位を添加し、総量20 μ lで37℃1時間反応させた。反応液をフェノール抽出後、エタノール沈殿を行ない、ペレットを20 mMトリス塩酸緩衝液 (pH 7.5)、100 mM KCl、4 mM MgCl₂、10 mM (NH₄)₂SO₄、50 μ g/ml 牛血清アルブミン溶液に溶解した。これに大腸菌DNAリガーゼ60単位を添加し、16℃で16時間反応させた。反応液に2 mM dNTP 2 μ l、大腸菌DNAポリメラーゼI 4単位、大腸菌RNase H 0.1単位を添加し、12℃1時間ついで22℃で1時間反応させた。

【0029】

次いでcDNA合成反応液を用いて大腸菌DH12S (GIBCO-BRL社製)の形質転換を行なった。形質転換はエレクトロポレーション法によって行なった。形質転換体の一部を100 μ g/mlアンピシリン含有2xYT寒天培地上に蒔いて37℃一晚培養した。寒天上に生じた任意のコロニーを拾い100 μ g/mlアンピシリン含有2xYT培地2 mlに接種して37℃で一晚培養した。培養液を遠心して、菌体からアルカリリシス法によりプラスミドDNAを調製した。プラスミドDNAはEcoRIとNotIで二重消化した後、0.8%アガロースゲル電気泳動を行ないcDNAインサートの大きさを求めた。また、得られたプラスミドを鋳型にして、蛍光色素で標識したM13ユニバーサルプライマーとTaqポリメラーゼ (アプライドバイオシステムズ社製キット)を用いてシーケンス反応を行なった後、蛍光DNAシーケンサー (アプライドバイオシステムズ社)にかけてcDNAの5'末端約400 bpの塩基配列を決定した。配列データはホモ・プロテインcDNAバンクデータベースとしてファイル化した。

【0030】

(3) 膜貫通ドメインを有する蛋白質をコードしているcDNAの選択

ホモ・プロテインcDNAバンクに登録された塩基配列を3フレームのアミノ酸配列に変換し、開始コドンから始まるオープンリーディングフレーム (ORF)の有無を調べた。次いでORFがコードしている部分のN末端に分泌蛋白質に

特有なシグナル配列が認められるものを選択した。これらのクローンについては、エキソヌクレアーゼIIIによる欠失法を用いて、5'並びに3'両方向からシーケンシングを行い、全塩基配列の決定を行った。ORFがコードしている蛋白質について、Kyte-Doolittleの方法[Kyte, J & Doolittle, R. F., J. Mol. Biol. 157:105-132 (1982)]により、疎水性/親水性プロフィールを求め、疎水性領域の有無を調べた。コードしている蛋白質のアミノ酸配列中に膜貫通ドメインと思われる疎水的な領域がある場合には、この蛋白質は膜蛋白質であると見なした。

【0031】

(4) 分泌シグナル配列あるいは膜貫通ドメインの機能確認

上記工程の結果得られた分泌蛋白質候補クローンについて、N末端の疎水性領域が分泌シグナル配列として機能することを、文献記載の方法[Yokoyama-Kobayashi, M. et al., Gene 163:193-196 (1995)]によって確認した。まずターゲットcDNAを含んでいるプラスミドを、分泌シグナル配列をコードしていると考えられる部分の下流に存在する適当な制限酵素部位で切断した。もしこの制限酵素部位が突出末端である場合には、クレノウ処理やT4DNAポリメラーゼ処理によって平滑末端にした。さらにHindIIIによる消化を行い、SV40プロモーターとその下流に分泌シグナル配列をコードしているcDNAを含むDNA断片をアガロースゲル電気泳動によって単離した。この断片を、pSSD3 (DDBJ/EMBL/GenBank登録番号AB007632)のHindIIIと、ウロキナーゼのコーディングフレームと合うように選択した制限酵素部位の間に挿入し、ターゲットcDNAの分泌シグナル配列部分とウロキナーゼプロテアーゼドメインの融合蛋白質を発現するためのベクターを構築した。

【0032】

融合蛋白質発現ベクターを有する大腸菌(宿主:JM109)を100 μ g/mlアンピシリン含有2xYT培地2ml中で37℃2時間培養した後、ヘルパーファージM13KO7(50 μ l)を添加し、37℃で一晩培養した。遠心によって分離した上澄からポリエチレングリコール沈殿によって一本鎖ファージ粒

子を得た。これを100 μ lの1mMトリス-0.1mMEDTA、pH8 (TE) に懸濁した。また対照として、pSSD3、並びにウロキナーゼの完全長cDNAを含むベクターpKA1-UPA [Yokoyama-Kobayashi, M. et al., Gene 163:193-196 (1995)] から同様にして調製した一本鎖ファージ粒子懸濁液を用いた。

【0033】

サル腎臓由来培養細胞COS7は、10%ウシ胎児血清を含むダルベッコ改変イーグル (DMEM) 培地中、5%CO₂存在下、37℃で培養した。1×10⁵個のCOS7細胞を6穴プレート (ヌンク社、穴の直径3cm) に植え、5%CO₂存在下、37℃で22時間培養した。培地除去後、リン酸緩衝液で細胞表面を洗浄し、さらに50mMトリス塩酸 (pH7.5) を含むDMEM (TDMEM) で再度洗浄した。この細胞に一本鎖ファージ懸濁液1 μ l、DMEM 培地0.6ml、TRANSFECTAMTM (IBF社) 3 μ lを懸濁したものを添加し、5%CO₂存在下、37℃で3時間培養した。サンプル液を除去後、TDMEMで細胞表面を洗浄し、10%ウシ胎児血清含有DMEMを1穴あたり2ml加え、5%CO₂存在下、37℃にて2日間培養した。

【0034】

2%ウシフィブリノーゲン (マイルス社)、0.5%アガロース、1mM塩化カルシウムを含む50mMリン酸緩衝液 (pH7.4) 10mlに10単位のヒトトロニン (持田製薬) を加え、直径9cmのプレート中で固化させ、フィブリンプレートを調製した。トランスフェクションしたCOS7細胞の培養上清10 μ lをフィブリンプレートに載せ、37℃で15時間インキュベートした。フィブリンプレート上に溶解円が現れたら、cDNA断片が分泌シグナル配列として機能するアミノ酸配列をコードしていることを意味する。一方、溶解円を形成しない場合には、細胞を十分洗浄した後、フィブリンシートを細胞の上にのせて、37℃で15時間インキュベートした。もし、フィブリンシートに溶解部分が生じたら、細胞表面にウロキナーゼ活性が発現したことを示す。すなわち、cDNA断片は、膜貫通ドメインをコードしていることを意味する。

【0035】

(5) インビトロ翻訳による蛋白質合成

本発明のcDNAを有するプラスミドベクターを用いて、T_NTウサギ網状赤血球溶解物キット（プロメガ社製）によるインビトロ転写／翻訳を行なった。この際 [³⁵S] メチオニンを添加し、発現産物をラジオアイソトープでラベルした。いずれの反応もキットに付属のプロトコールに従って行なった。プラスミド2 μgを、T_NTウサギ網状赤血球溶解物12.5 μl、緩衝液（キットに付属）0.5 μl、アミノ酸混合液（メチオニンを含まない）2 μl、 [³⁵S] メチオニン（アマーシャム社）2 μl（0.37 MBq/μl）、T7 RNAポリメラーゼ0.5 μl、RNasin 20 Uを含む総量25 μlの反応液中で30℃で90分間反応させた。反応液3 μlにSDSサンプリングバッファー（125 mMトリス塩酸緩衝液、pH 6.8、120 mM 2-メルカプトエタノール、2% SDS溶液、0.025% ブロモフェノールブルー、20% グリセロール）2 μlを加え、95℃ 3分間加熱処理した後、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけた。オートラジオグラフィーを行ない、翻訳産物の分子量を求めた。

【0036】

(6) COS 7による発現

本発明の蛋白質の発現ベクターを有する大腸菌に、ヘルパーファージM13 KO7を感染させ、上記の方法で一本鎖ファージ粒子を得た。得られたファージを用いて上記の方法によりサル腎臓由来培養細胞COS 7に各発現ベクターを導入した。5% CO₂存在下、37℃で2日間培養したのち、 [³⁵S] システインあるいは [³⁵S] メチオニンを含む培地中で1時間培養した。細胞を集め溶解した後、SDS-PAGEにかけたところ、COS 7細胞には存在しない、各蛋白質の発現産物に相当するバンドが認められた。

【0037】

(7) クローン例

<HP01434>（配列番号1、8、15）

ヒト胃癌cDNAライブラリーから得られたクローンHP01434のcDNAインサートの全塩基配列を決定したところ、69 bpの5' 非翻訳領域、390 bpのORF、302 bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた。OR

Fは129アミノ酸残基からなる蛋白質をコードしており、1箇所の推定膜貫通ドメインが存在した。図1にK y t e - D o o l i t t l eの方法で求めた本蛋白質の疎水性／親水性プロフィールを示す。インビトロ翻訳の結果、O R Fから予想される分子量14,795よりわずかに大きい17kDaの翻訳産物が生成した。本蛋白質のN末端68アミノ酸残基をコードしているcDNA部分を含むH i n d I I I - P s t I (T4DNAポリメラーゼ処理により平滑末端化)断片をpSSD3のH i n d I I I - P m a C I部位に挿入した発現ベクターをC O S 7細胞に導入したところ、ウロキナーゼ活性は培地中に認められず、本蛋白質は膜に留まっていることが示された。

【 0 0 3 8 】

本蛋白質のアミノ酸配列を用いてプロテインデータベースを検索したところ、マウスFK506結合蛋白質（SWISS-PROTアクセス番号P45878）と類似性を有していた。表2に、本発明のヒト蛋白質（HP）とマウスFK506結合蛋白質（MM）のアミノ酸配列の比較を示す。－はギャップを、＊は本発明の蛋白質と同一アミノ酸残基を、．は本発明の蛋白質と類似アミノ酸残基をそれぞれ表す。両者は、94アミノ酸残基で46.8%の相同性を有していた。

【 0 0 3 9 】

【表 2】

表 2

HS MHFLFRFIVFFYLGWGLFTAQRQKKEESTEEVKIEVLHRPENCSKTSKKGDLLNAHYDGYL

* . . . * * . * . . * . * . * * * . * . * * . * *

MM MRLSWILTILSICLSALAAATGAEGKRKLQIGVKKRVDHCP IKS RKG DVLHMHYTGKL

HS AKDGSKFYCSRTQNEGHPKWFVLGVGQVIKGLDIAMTDMCPGEKRVVIPP SFAYGKEGY

..**..*.*.***.* **..**..***** * ..**..*****.***.....**.*

MM -EDGTEFDSSLPQN--QPFVFSLGTGQVIKGWDQGLLGMCEGEKRKLVIPSELGYGERGA

HS DKPLLAGKI

MM PPKIPGGATLVFEVELLKIERRSEL

【0040】

また、本cDNAの塩基配列を用いてGenBankを検索したところ、ESTの中に、90%以上の相同性を有するもの（例えば、アクセション番号AA431230）が登録されていたが、いずれも本cDNAより短く、開始コドンから含んでいるものは見いだせなかった。

【0041】

マウスFK506結合蛋白質は、ペプチジルプロリルシーストランスイソメラーゼ活性を有し、蛋白質のフォールディングに関与している[Hendrickson, B. A. et al., Gene 134:271-275 (1993)]。

【0042】

<HP01512> (配列番号2、9、16)

ヒト胃癌cDNAライブラリーから得られたクローンHP01512のcDNAインサートの全塩基配列を決定したところ、45bpの5' 非翻訳領域、408bpのORF、248bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた。ORFは135アミノ酸残基からなる蛋白質をコードしており、1箇所の推定膜貫通ドメインが存在した。図2にKyte-Doolittleの方法で求めた本蛋白質の疎水性/親水性プロフィールを示す。

【0043】

本蛋白質のアミノ酸配列を用いてプロテインデータベースを検索したところ、線虫仮想蛋白質W02B12.7 (PIDアクセション番号1044857)と類似性を有していた。表3に、本発明のヒト蛋白質(HP)と線虫仮想蛋白質W02B12.7 (CE)のアミノ酸配列の比較を示す。-はギャップを、*は本発明の蛋白質と同一アミノ酸残基を、. は本発明の蛋白質と類似アミノ酸残基をそれぞれ表す。本蛋白質のC末端側87アミノ酸残基が、線虫仮想蛋白質W02B12.7のN末端側と49.4%の相同性を有していた。

【0044】

【表 3】

表 3

HS MVLESVARIVKVQLPAYLKRLPVPESITGFARLTVSEWLRLLPFLGVLALLGYLA
 * . ** .*** .
 CE MTIAGFCALSLIQDHCCWTTTPQHCSVAELGTMPCTQVSGRCVATTA AVLAGGALIGYLV
 HS VRPFLPKKKQKDSLINLKIQKENPKVVNEINIEDLCLTKAAYCRCWRSKTFPACDGSHN
 * *... * *** .. *. *...***. .* *.***. *... * *****.
 CE GYKF——GQRSARCNYKIQLDSNKIVDTVDIEDIG-EKKAFCRCWKSEKWPYCDGSHG
 HS KHNELTGDNVGPLILKKKEV
 . **.*
 CE KHNKETGDNVGPLIVKSEKNLYIYIIISDFYNNHTNDLKHQIAQLERKTATIPKLENQLH

【0045】

また、本 cDNA の塩基配列を用いて GenBank を検索したところ、EST の中に、90% 以上の相同性を有するもの（例えば、アクセシオン番号 AA429420）が登録されていたが、部分配列なので本発明の蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

【0046】

<HP02080>（配列番号 3、10、17）

ヒト骨肉腫細胞株 Saos-2 cDNA ライブラリーから得られたクローン HP02080 の cDNA インサートの全塩基配列を決定したところ、80bp の 5' 非翻訳領域、240bp の ORF、73bp の 3' 非翻訳領域からなる構造を有していた。ORF は 79 アミノ酸残基からなる蛋白質をコードしており、1 箇所の推定膜貫通ドメインが存在した。図 3 に Kyte-Doolittle の方法で求めた本蛋白質の疎水性／親水性プロファイルを示す。インビトロ翻訳の結果、ORF から予想される分子量 8,177 とほぼ同じ 10kDa の翻訳産物が生成した。

【0047】

本蛋白質のアミノ酸配列を用いてプロテインデータベースを検索したところ、酵母仮想蛋白質L p g 1 0 p (PIDアクセシオン番号1749572)と類似性を有していた。表4に、本発明のヒト蛋白質(HP)と酵母仮想蛋白質L p g 1 0 p (SC)のアミノ酸配列の比較を示す。－はギャップを、*は本発明の蛋白質と同一アミノ酸残基を、. は本発明の蛋白質と類似アミノ酸残基をそれぞれ表す。全領域にわたって、46.3%の相同性を有していた。

【0048】

【表4】

表4

HS	MPVAVGPYQSQPSCFDRVKMGFVMGCAVGMAAGALFGTFSCLRIGMRGRELMGGIGKTM
	*** *.*** .**.*.. * ***. . ** * *... ..*.*
SC	MQSMQPSTVDKLMGAIMGSAAGLGIGFLFGGVAVLRYGPGPRGFLRTLQGYM
HS	MQSGGTFGTFMAIGMGIRC
	. *.*** **. ** **
SC	LTSAATFGFFMSIGSVIRNEDIPLIQSGSHWNQRLNENANSSRIFALAMQQAKSSPRK

【0049】

また、本cDNAの塩基配列を用いてGenBankを検索したところ、ESTの中に、90%以上の相同性を有するもの(例えば、アクセシオン番号AA348987)が登録されていたが、部分配列なので本発明の蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

【0050】

<HP02239> (配列番号4、11、18)

ヒト胃癌cDNAライブラリーから得られたクローンHP02239のcDNAインサートの全塩基配列を決定したところ、47bpの5' 非翻訳領域、435bpのORF、551bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた。ORFは144アミノ酸残基からなる蛋白質をコードしており、3箇所の推定膜貫通ドメインが存在した。図4にKyte-Doolittleの方法で求めた本蛋

白質の疎水性／親水性プロフィールを示す。インビトロ翻訳の結果、ORFから予想される分子量16,687とほぼ同じ17kDaの翻訳産物が生成した。

【0051】

本蛋白質のアミノ酸配列を用いてプロテインデータベースを検索したところ、マウスコルニコン（PIDアクセション番号2460430）と類似性を有していた。表5に、本発明のヒト蛋白質（HP）とマウスコルニコン（MM）のアミノ酸配列の比較を示す。＊は本発明の蛋白質と同一アミノ酸残基を、．は本発明の蛋白質と類似アミノ酸残基をそれぞれ表す。両者は、全領域で99.3%の相同性を有していた。

【0052】

【表5】

表5

HS MAFTFAAFCYMLALLLTAALIFFAIWHIIAFDELKTDYKNPIDQCNTLNPLVLPEYLIHA

MM MAFTFAAFCYMLALLLTAALIFFAIWHIIAFDELKTDYKNPIDQCNTLNPLVLPEYLIHA

HS FFCVMFLCAAEWLTLGLNMPLLAYHIWRYMSRPVMSGPLYDPTTIMNADILAYCQKEGW

*****.*****

MM FFCVMFLCAAEWLTLGLNMPLLAYHIWRYMSRPVMSAPGLYDPTTIMNADILAYCQKEGW

HS CKLAFYLLAFFYYLYGMIYVLVSS

MM CKLAFYLLAFFYYLYGMIYVLVSS

【0053】

また、本cDNAの塩基配列を用いてGenBankを検索したところ、ESTの中に、90%以上の相同性を有するもの（例えば、アクセション番号W02973）が登録されていたが、部分配列なので本発明の蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

【0054】

コルニコンは、ショウジョウバエにおいて発生過程で、形態形成に必須の膜蛋白質として見いだされた [Roth, S. et al., Cell 81:967-978 (1995)]。

【0055】

<HP02375> (配列番号5、12、19)

ヒトリンホーマ細胞株U937 cDNAライブラリーから得られたクローンHP02375のcDNAインサートの全塩基配列を決定したところ、85bpの5' 非翻訳領域、849bpのORF、336bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた。ORFは282アミノ酸残基からなる蛋白質をコードしており、N末端にシグナル様配列を、またC末端に1箇所の膜貫通ドメインを有していた。従って、本蛋白質はI型膜蛋白質であると思われる。図5にKyte-Doolittleの方法で求めた本蛋白質の疎水性/親水性プロフィールを示す。

【0056】

本蛋白質のアミノ酸配列を用いてプロテインデータベースを検索したところ、ヒトLDLレセプター関連蛋白質1 (PIDアクセション番号1708865) と類似性を有していた。表6に、本発明のヒト蛋白質 (HP) とヒトLDLレセプター関連蛋白質1 (LR) のアミノ酸配列の比較を示す。-はギャップを、*は本発明の蛋白質と同一アミノ酸残基を、. は本発明の蛋白質と類似アミノ酸残基をそれぞれ表す。本蛋白質の中間部分が、ヒトLDLレセプター関連蛋白質1のLDLレセプタークラスAドメイン部と36.4%の相同性を有していた。特にシステインの位置が保存されていた。

【0057】

【表6】

表6

HS

MSGGWMAQVGAW

LR CGDRSDESASCAYPTCFPLTQFTCNNGRCININWRCNDNDNCGDNSDEAGCSHSCSSTQF

HS RTGALGLALLLLGLGLGLEAAASPLSTPTSAQAAGPSSGSCPPTKFCRTSGLCVPLTW

.....*.....*.....**** .***.** *

LR KCNSGRCIPEHWTCGDNDNCGDYSDETHANCTNQATRPPGGCHTDEFQCRLDGLCIPLRW
HS RCDRLDCSDGSDDEEECR--IEPCTQKGQ--C-PPPPGLPCP--CTGVSDCSGGTDKKLR

*** * ** *.***.* .. *... . * *. * .***....*..

LR RCDGDTDCMDSSDEKSCEGVTHVCDPSVKFGCKDSARCISKAWVCDGDNDCEDNSDEE--
HS NCSRLACLAGELRCTLSDD-CIPLTWRCDGHPDCPDSSDELGCGTNEILPEGDATTMGPP

..* . . *. ... *. * . ***. ** *.***

LR NCESLACRPPSHPCANNTSVCLPPDKLCDGNDDCGDGSDEGELCDQCSLNNGGCSHNCSV
HS VTLESVTSLRNATTMGPPVTLESVPSVGNATSSSAGDQSGSPTAYGVIAAAVLSASLVT

LR APGEGIVCSCPLGMELGPDNHTCQIQSYCAKHLKCSQKCDQNKFSVKCSCYEGWVLEPDG
HS ATLLLLSWLRAQERLRPLGLLVAMKESLLLSEQKTSLP

LR ESCRSLDPFKPFIIFS NRHEIRRIDLHKGDYSVLVPGLRNTIALDFHLSQSALYWTDVVE

【0058】

また、本 cDNA の塩基配列を用いて GenBank を検索したところ、EST の中に、90% 以上の相同性を有するもの（例えば、アクセシオン番号 H94922）が登録されていたが、いずれも本 cDNA より短く、開始コドンから含んでいるものは見いだせなかった。

【0059】

ヒト LDL レセプター関連蛋白質 1 は、 α 2-マクログロブリンレセプターであることが示されている [Kristensen, T. et al., FEB S Lett. 276:151-155 (1990)]。このように LDL レセプタークラス A ドメインを有する蛋白質は、血清中に存在する蛋白質のレセプターとして働いていると考えられる。

【0060】

<HP10517> (配列番号 6、13、20)

ヒト肝臓 cDNA ライブラリーから得られたクローン HP10517 の cDN

Aインサートの全塩基配列を決定したところ、163bpの5' 非翻訳領域、303bpのORF、370bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた。ORFは100アミノ酸残基からなる蛋白質をコードしており、1箇所の膜貫通ドメインを有していた。図6にKyte-Doolittleの方法で求めた本蛋白質の疎水性／親水性プロファイルを示す。インビトロ翻訳の結果、ORFから予想される分子量11,796とほぼ同じ12kDaの翻訳産物が生成した。

【0061】

本蛋白質のアミノ酸配列を用いてプロテインデータベースを検索したが、類似性を有する既知蛋白質はなかった。また、本cDNAの塩基配列を用いてGenBankを検索したところ、ESTの中に、90%以上の相同性を有するもの（例えば、アクセション番号R68523）が存在したが、部分配列なので本発明の蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

【0062】

<HP10521>（配列番号7、14、21）

ヒト肝臓cDNAライブラリーから得られたクローンHP10521のcDNAインサートの全塩基配列を決定したところ、55bpの5' 非翻訳領域、678bpのORF、289bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた。ORFは225アミノ酸残基からなる蛋白質をコードしており、4箇所の膜貫通ドメインを有していた。図7にKyte-Doolittleの方法で求めた本蛋白質の疎水性／親水性プロファイルを示す。インビトロ翻訳の結果、ORFから予想される分子量24,809よりやや大きい27kDaの翻訳産物が生成した。

【0063】

本蛋白質のアミノ酸配列を用いてプロテインデータベースを検索したが、類似性を有する既知蛋白質はなかった。また、本cDNAの塩基配列を用いてGenBankを検索したところ、ESTの中に、90%以上の相同性を有するもの（例えば、アクセション番号AA043627）が存在したが、部分配列なので本発明の蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

【0064】

【発明の効果】

本発明は膜貫通ドメインを有するヒト蛋白質、それをコードしているcDNA、該cDNAの発現ベクター、および該cDNAを発現させた真核細胞を提供する。本発明の蛋白質は、いずれも細胞膜に存在するので、細胞の増殖や分化を制御している蛋白質と考えられる。したがって、本発明の蛋白質は、細胞の増殖や分化の制御に関わる制癌剤などの医薬品として、あるいは該蛋白質に対する抗体を作製するための抗原として用いることができる。本発明のcDNAは、遺伝子診断用プローブや遺伝子治療用遺伝子源として用いることができる。また、該DNAを用いることにより、該蛋白質を大量に発現することができる。これら膜蛋白質遺伝子を導入して該蛋白質を膜表面に有する細胞は、対応するリガンドの検出、新しい低分子医薬のスクリーニングなどに利用できる。

【0065】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：129

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質

ハイボセティカル：No

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：胃癌

クローン名：HP01434

配列

Met His Phe Leu Phe Arg Phe Ile Val Phe Phe Tyr Leu Trp Gly Leu

1

5

10

15

Phe Thr Ala Gln Arg Gln Lys Lys Glu Glu Ser Thr Glu Glu Val Lys

20

25

30

Ile Glu Val Leu His Arg Pro Glu Asn Cys Ser Lys Thr Ser Lys Lys

35

40

45

Gly Asp Leu Leu Asn Ala His Tyr Asp Gly Tyr Leu Ala Lys Asp Gly

50

55

60

Ser Lys Phe Tyr Cys Ser Arg Thr Gln Asn Glu Gly His Pro Lys Trp

65

70

75

80

Phe Val Leu Gly Val Gly Gln Val Ile Lys Gly Leu Asp Ile Ala Met

85

90

95

Thr Asp Met Cys Pro Gly Glu Lys Arg Lys Val Val Ile Pro Pro Ser

100

105

110

Phe Ala Tyr Gly Lys Glu Gly Tyr Asp Lys Pro Leu Leu Ala Lys Gly

115

120

125

Ile

【0066】

配列番号：2

配列の長さ：135

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質

ハイボセティカル：No

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：胃癌

クローン名：HP01512

配列

Met Val Leu Glu Ser Val Ala Arg Ile Val Lys Val Gln Leu Pro Ala

1

5

10

15

Tyr Leu Lys Arg Leu Pro Val Pro Glu Ser Ile Thr Gly Phe Ala Arg

20

25

30

Leu Thr Val Ser Glu Trp Leu Arg Leu Leu Pro Phe Leu Gly Val Leu

35

40

45

Ala Leu Leu Gly Tyr Leu Ala Val Arg Pro Phe Leu Pro Lys Lys Lys
 50 55 60
 Gln Gln Lys Asp Ser Leu Ile Asn Leu Lys Ile Gln Lys Glu Asn Pro
 65 70 75 80
 Lys Val Val Asn Glu Ile Asn Ile Glu Asp Leu Cys Leu Thr Lys Ala
 85 90 95
 Ala Tyr Cys Arg Cys Trp Arg Ser Lys Thr Phe Pro Ala Cys Asp Gly
 100 105 110
 Ser His Asn Lys His Asn Glu Leu Thr Gly Asp Asn Val Gly Pro Leu
 115 120 125
 Ile Leu Lys Lys Lys Glu Val
 130 135

【0067】

配列番号：3

配列の長さ：79

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質

ハイポセティカル：No

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：骨肉腫

セルライン：Saos-2

クローン名：HP02080

配列

Met Pro Val Ala Val Gly Pro Tyr Gly Gln Ser Gln Pro Ser Cys Phe
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Lys Met Gly Phe Val Met Gly Cys Ala Val Gly Met Ala
 20 25 30

Ala Gly Ala Leu Phe Gly Thr Phe Ser Cys Leu Arg Ile Gly Met Arg

35

40

45

Gly Arg Glu Leu Met Gly Gly Ile Gly Lys Thr Met Met Gln Ser Gly

50

55

60

Gly Thr Phe Gly Thr Phe Met Ala Ile Gly Met Gly Ile Arg Cys

65

70

75

【0068】

配列番号：4

配列の長さ：144

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質

ハイボセティカル：No

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：胃癌

クローン名：HP02239

配列

Met Ala Phe Thr Phe Ala Ala Phe Cys Tyr Met Leu Ala Leu Leu Leu

1

5

10

15

Thr Ala Ala Leu Ile Phe Phe Ala Ile Trp His Ile Ile Ala Phe Asp

20

25

30

Glu Leu Lys Thr Asp Tyr Lys Asn Pro Ile Asp Gln Cys Asn Thr Leu

35

40

45

Asn Pro Leu Val Leu Pro Glu Tyr Leu Ile His Ala Phe Phe Cys Val

50

55

60

Met Phe Leu Cys Ala Ala Glu Trp Leu Thr Leu Gly Leu Asn Met Pro

65

70

75

80

Leu Leu Ala Tyr His Ile Trp Arg Tyr Met Ser Arg Pro Val Met Ser

	85	90	95
Gly Pro Gly Leu Tyr Asp Pro Thr Thr Ile Met Asn Ala Asp Ile Leu			
100	105	110	
Ala Tyr Cys Gln Lys Glu Gly Trp Cys Lys Leu Ala Phe Tyr Leu Leu			
115	120	125	
Ala Phe Phe Tyr Tyr Leu Tyr Gly Met Ile Tyr Val Leu Val Ser Ser			
130	135	140	

【0069】

配列番号：5

配列の長さ：282

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質

ハイボセティカル：No

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：リンホーマ

セルライン：U937

クローン名：HP02375

配列

Met Ser Gly Gly Trp Met Ala Gln Val Gly Ala Trp Arg Thr Gly Ala			
1	5	10	15
Leu Gly Leu Ala Leu Leu Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Glu			
20	25	30	
Ala Ala Ala Ser Pro Leu Ser Thr Pro Thr Ser Ala Gln Ala Ala Gly			
35	40	45	
Pro Ser Ser Gly Ser Cys Pro Pro Thr Lys Phe Gln Cys Arg Thr Ser			
50	55	60	
Gly Leu Cys Val Pro Leu Thr Trp Arg Cys Asp Arg Asp Leu Asp Cys			

65	70	75	80
Ser Asp Gly Ser Asp Glu Glu Glu Cys Arg Ile Glu Pro Cys Thr Gln			
	85	90	95
Lys Gly Gln Cys Pro Pro Pro Pro Gly Leu Pro Cys Pro Cys Thr Gly			
	100	105	110
Val Ser Asp Cys Ser Gly Gly Thr Asp Lys Lys Leu Arg Asn Cys Ser			
	115	120	125
Arg Leu Ala Cys Leu Ala Gly Glu Leu Arg Cys Thr Leu Ser Asp Asp			
	130	135	140
Cys Ile Pro Leu Thr Trp Arg Cys Asp Gly His Pro Asp Cys Pro Asp			
145	150	155	160
Ser Ser Asp Glu Leu Gly Cys Gly Thr Asn Glu Ile Leu Pro Glu Gly			
	165	170	175
Asp Ala Thr Thr Met Gly Pro Pro Val Thr Leu Glu Ser Val Thr Ser			
	180	185	190
Leu Arg Asn Ala Thr Thr Met Gly Pro Pro Val Thr Leu Glu Ser Val			
	195	200	205
Pro Ser Val Gly Asn Ala Thr Ser Ser Ser Ala Gly Asp Gln Ser Gly			
	210	215	220
Ser Pro Thr Ala Tyr Gly Val Ile Ala Ala Ala Ala Val Leu Ser Ala			
225	230	235	240
Ser Leu Val Thr Ala Thr Leu Leu Leu Leu Ser Trp Leu Arg Ala Gln			
	245	250	255
Glu Arg Leu Arg Pro Leu Gly Leu Leu Val Ala Met Lys Glu Ser Leu			
	260	265	270
Leu Leu Ser Glu Gln Lys Thr Ser Leu Pro			
	275	280	

【0070】

配列番号：6

配列の長さ：100

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質

ハイポセティカル：No

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：肝臓

クローン名：HP10517

配列

Met Gly Asp Asp Gly Ser Ile Asp Tyr Thr Val His Glu Ala Trp Asn

1 5 10 15

Glu Ala Thr Asn Val Tyr Leu Ile Val Ile Leu Val Ser Phe Gly Leu

20 25 30

Phe Met Tyr Ala Lys Arg Asn Lys Arg Arg Ile Met Arg Ile Phe Ser

35 40 45

Val Pro Pro Thr Glu Glu Thr Leu Ser Glu Pro Asn Phe Tyr Asp Thr

50 55 60

Ile Ser Lys Ile Arg Leu Arg Gln Gln Leu Glu Met Tyr Ser Ile Ser

65 70 75 80

Arg Lys Tyr Asp Tyr Gln Gln Pro Gln Asn Gln Ala Asp Ser Val Gln

85 90 95

Leu Ser Leu Glu

100

【0071】

配列番号：7

配列の長さ：225

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質

ハイポセティカル：No

起源：

生物名：ホモ＝サピエンス

細胞の種類：肝臓

クローン名：HP10521

配列

Met Gly Thr Ala Asp Ser Asp Glu Met Ala Pro Glu Ala Pro Gln His
1 5 10 15
Thr His Ile Asp Val His Ile His Gln Glu Ser Ala Leu Ala Lys Leu
20 25 30
Leu Leu Thr Cys Cys Ser Ala Leu Arg Pro Arg Ala Thr Gln Ala Arg
35 40 45
Gly Ser Ser Arg Leu Leu Val Ala Ser Trp Val Met Gln Ile Val Leu
50 55 60
Gly Ile Leu Ser Ala Val Leu Gly Gly Phe Phe Tyr Ile Arg Asp Tyr
65 70 75 80
Thr Leu Leu Val Thr Ser Gly Ala Ala Ile Trp Thr Gly Ala Val Ala
85 90 95
Val Leu Ala Gly Ala Ala Ala Phe Ile Tyr Glu Lys Arg Gly Gly Thr
100 105 110
Tyr Trp Ala Leu Leu Arg Thr Leu Leu Ala Leu Ala Ala Phe Ser Thr
115 120 125
Ala Ile Ala Ala Leu Lys Leu Trp Asn Glu Asp Phe Arg Tyr Gly Tyr
130 135 140
Ser Tyr Tyr Asn Ser Ala Cys Arg Ile Ser Ser Ser Ser Asp Trp Asn
145 150 155 160
Thr Pro Ala Pro Thr Gln Ser Pro Glu Glu Val Arg Arg Leu His Leu
165 170 175

Cys Thr Ser Phe Met Asp Met Leu Lys Ala Leu Phe Arg Thr Leu Gln

180

185

190

Ala Met Leu Leu Gly Val Trp Ile Leu Leu Leu Leu Ala Ser Leu Ala

195

200

205

Pro Leu Trp Leu Tyr Cys Trp Arg Met Phe Pro Thr Lys Gly Val Ser

210

215

220

Pro

225

【0072】

配列番号：8

配列の長さ：387

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：胃癌

クローン名：HP01434

配列

ATGCATTTCT TATTCAGATT CATTGTTTTC TTTTATCTGT GGGGCCTTTT TACTGCTCAG	60
AGACAAAAGA AAGAGGAGAG CACCGAAGAA GTGAAAATAG AAGTTTGTCA TCGTCCAGAA	120
AACTGCTCTA AGACAAGCAA GAAGGGAGAC CTAATAAATG CCCATTATGA CGGCTACCTG	180
GCTAAAGACG GCTCGAAATT CTACTGCAGC CGGACACAAA ATGAAGGCCA CCCCAAATGG	240
TTTGTTCTTG GTGTTGGGCA AGTCATAAAA GGCCTAGACA TTGCTATGAC AGATATGTGC	300
CCTGGAGAAA AGCGAAAAGT AGTTATACCC CCTTCATTG CATACGGAAA GGAAGGCTAT	360
GATAAACCTC TACTTGCAAA GGGAATT	387

【0073】

配列番号：9

配列の長さ：405

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：胃癌

クローン名：HP01512

配列

ATGGTGCTGG AGAGCGTGGC CCGTATCGTG AAGGTGCAGC TCCCTGCATA TCTGAAGCGG	60
CTCCCAGTCC CTGAAAGCAT TACCGGGTTC GCTAGGCTCA CAGTTTCAGA ATGGCTTCGG	120
TTATTGCCTT TCCTTGGTGT ACTCGCACTT CTTGGCTACC TTGCAGTTCG TCCATTCCTC	180
CCGAAGAAGA AACAAACAGAA GGATAGCTTG ATTAATCTTA AAATACAAAA GGAAAATCCG	240
AAAGTAGTGA ATGAAATAAA CATTGAAGAT TTGTGTCTTA CTAAAGCAGC TTATTGTAGG	300
TGTTGGCGTT CTAAAACGTT TCCTGCCTGC GATGGTTCAC ATAATAAACA CAATGAATTG	360
ACAGGAGATA ATGTGGGTCC ACTAATACTG AAGAAGAAAG AAGTA	405

【0074】

配列番号：10

配列の長さ：237

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：骨肉腫

セルライン：Saos-2

クローン名：HP02080

配列

ATGCCGGTGG CCGTGGGTCC CTACGGACAG TCCCAGCCAA GCTGCTTCGA CCGTGTCAAA 60
 ATGGGCTTCG TGATGGGTG CGCCGTGGGC ATGGCGGCCG GGGCGCTCTT CGGCACCTTT 120
 TCCTGTCTCA GGATCGGAAT GCGGGGTCGA GAGCTGATGG GCGGCATTGG GAAAACCATG 180
 ATGCAGAGTG GCGGCACCTT TGGCACATTC ATGGCCATTG GGATGGGCAT CCGATGC 237

【0075】

配列番号：11

配列の長さ：432

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ＝サピエンス

細胞の種類：胃癌

クローン名：HP02239

配列

ATGGCGTTCA CGTTCGCGGC CTTCTGCTAC ATGCTGGCGC TGCTGCTCAC TGCCGCGCTC 60
 ATCTTCTTCG CCATTGGCA CATTATAGCA TTTGATGAGC TGAAGACTGA TTACAAGAAT 120
 CCTATAGACC AGTGTAATAC CCTGAATCCC CTTGTACTCC CAGAGTACCT CATCCACGCT 180
 TTCTTCTGTG TCATGTTTCT TTGTGCAGCA GAGTGGCTTA CACTGGGTCT CAATATGCCC 240
 CTCTTGGCAT ATCATATTTG GAGGTATATG AGTAGACCAG TGATGAGTGG CCCAGGACTC 300
 TATGACCCTA CAACCATCAT GAATGCAGAT ATTCTAGCAT ATTGTCAGAA GGAAGGATGG 360
 TGCAAATTAG CTTTTTATCT TCTAGCATTT TTTTACTACC TATATGGCAT GATCTATGTT 420
 TTGGTGAGCT CT 432

【0076】

配列番号：12

配列の長さ：846

配列の型：核酸

鎖の数： 二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：リンホーマ

セルライン：U937

クローン名：HP02375

配列

ATGAGCGGCG GTTGGATGGC GCAGGTTGGA GCGTGGCGAA CAGGGGCTCT GGGCCTGGCG	60
CTGCTGCTGC TGCTCGGCCT CGGACTAGGC CTGGAGGCCG CCGCGAGCCC GCTTTCCACC	120
CCGACCTCTG CCCAGGCCGC AGGCCCCAGC TCAGGCTCGT GCCCACCAC CAAGTTCCAG	180
TGCCGCACCA GTGGCTTATG CGTGCCCCTC ACCTGGCGCT GCGACAGGGA CTTGGACTGC	240
AGCGATGGCA GCGATGAGGA GGAGTGCAGG ATTGAGCCAT GTACCCAGAA AGGGCAATGC	300
CCACCGCCCC CTGGCCTCCC CTGCCCCTGC ACCGGCGTCA GTGACTGCTC TGGGGGAACT	360
GACAAGAAAC TGCGCAACTG CAGCCGCCTG GCCTGCCTAG CAGGCGAGCT CCGTTGCACG	420
CTGAGCGATG ACTGCATTCC ACTCACGTGG CGCTGCGACG GCCACCCAGA CTGTCCCGAC	480
TCCAGCGACG AGCTCGGCTG TGGAACCAAT GAGATCCTCC CGGAAGGGGA TGCCACAACC	540
ATGGGGCCCC CTGTGACCCT GGAGAGTGTC ACCTCTCTCA GGAATGCCAC AACCATGGGG	600
CCCCCTGTGA CCCTGGAGAG TGTCCCCTCT GTCGGGAATG CCACATCCTC CTCTGCCGGA	660
GACCAGTCTG GAAGCCCAAC TGCCTATGGG GTTATTGCAG CTGCTGCGGT GCTCAGTGCA	720
AGCCTGGTCA CCGCCACCCT CCTCCTTTTG TCCTGGCTCC GAGCCCAGGA GCGCCTCCGC	780
CCACTGGGGT TACTGGTGGC CATGAAGGAG TCCCTGCTGC TGTCAGAACA GAAGACCTCG	840
CTGCCC	846

【0077】

配列番号：13

配列の長さ：300

配列の型：核酸

鎖の数： 二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：肝臓

クローン名：HP10517

配列

ATGGGTGACG ATGGTTCTAT TGATTATACT GTTCACGAAG CCTGGAATGA AGCCACCAAT	60
GTTTACTTGA TAGTTATCCT TGTTAGCTTC GGTCTCTTCA TGTATGCCAA AAGGAACAAA	120
AGGAGAATTA TGAGGATATT CAGTGTGCCA CCTACAGAGG AAACCTTTGTC AGAGCCCAAC	180
TTTTATGACA CGATAAGCAA GATTCGTTTA AGACAACAAC TGGAAATGTA TTCCATTTC	240
AGAAAGTACG ACTATCAGCA GCCACAAAAC CAAGCTGACA GTGTGCAACT CTCATTGGAA	300

【0078】

配列番号：14

配列の長さ：675

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：肝臓

クローン名：HP10521

配列

ATGGGAACAG CCGACAGTGA TGAGATGGCC CCGGAGGCC CACAGCACAC CCACATCGAT	60
GTGCACATCC ACCAGGAGTC TGCCCTGGCC AAGCTCCTGC TCACCTGCTG CTCTGCGCTG	120
CGGCCCCGGG CCACCCAGGC CAGGGGCAGC AGCCGGCTGC TGGTGGCCTC GTGGGTGATG	180
CAGATCGTGC TGGGGATCTT GAGTGCAGTC CTAGGAGGAT TTTTCTACAT CCGCGACTAC	240
ACCCTCCTCG TCACCTCGGG AGCTGCCATC TGGACAGGGG CTGTGGCTGT GCTGGCTGGA	300

GCTGCTGCCT TCATTTACGA GAAACGGGGT GGTACATACT GGGCCCTGCT GAGGACTCTG 360
 CTAGCGCTGG CAGCTTTCTC CACAGCCATC GCTGCCCTCA AACTTTGGAA TGAAGATTTC 420
 CGATATGGCT ACTCTTATTA CAACAGTGCC TGCCGCATCT CCAGCTCGAG TGAAGTGAAC 480
 ACTCCAGCCC CCACTCAGAG TCCAGAAGAA GTCAGAAGGC TACACCTATG TACCTCCTTC 540
 ATGGACATGC TGAAGGCCTT GTTCAGAACC CTTGAGGCCA TGCTCTGGG TGTCTGGATT 600
 CTGCTGCTTC TGGCATCTCT GGCCCCTCTG TGGCTGTACT GCTGGAGAAT GTTCCCAACC 660
 AAAGGGGTGA GTCCC 675

【0079】

配列番号：15

配列の長さ：761

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：胃癌

クローン名：HP01434

配列の特徴：

特徴を表す記号：CDS

存在位置：70...459

特徴を決定した方法：E

配列

GACATCCACG GGGCGCGAGT GACACGCGGG AGGGAGAGCA GTGTTCTGCT GGAGCCGATG 60
 CCAAAAACC ATG CAT TTC TTA TTC AGA TTC ATT GTT TTC TTT TAT CTG TGG 111
 Met His Phe Leu Phe Arg Phe Ile Val Phe Phe Tyr Leu Trp
 1 5 10
 GGC CTT TTT ACT GCT CAG AGA CAA AAG AAA GAG GAG AGC ACC GAA GAA 159
 Gly Leu Phe Thr Ala Gln Arg Gln Lys Lys Glu Glu Ser Thr Glu Glu

15	20	25	30	
GTG AAA ATA GAA GTT TTG CAT CGT CCA GAA AAC TGC TCT AAG ACA AGC				207
Val Lys Ile Glu Val Leu His Arg Pro Glu Asn Cys Ser Lys Thr Ser				
35	40	45		
AAG AAG GGA GAC CTA CTA AAT GCC CAT TAT GAC GGC TAC CTG GCT AAA				255
Lys Lys Gly Asp Leu Leu Asn Ala His Tyr Asp Gly Tyr Leu Ala Lys				
50	55	60		
GAC GGC TCG AAA TTC TAC TGC AGC CGG ACA CAA AAT GAA GGC CAC CCC				303
Asp Gly Ser Lys Phe Tyr Cys Ser Arg Thr Gln Asn Glu Gly His Pro				
65	70	75		
AAA TGG TTT GTT CTT GGT GTT GGG CAA GTC ATA AAA GGC CTA GAC ATT				351
Lys Trp Phe Val Leu Gly Val Gly Gln Val Ile Lys Gly Leu Asp Ile				
80	85	90		
GCT ATG ACA GAT ATG TGC CCT GGA GAA AAG CGA AAA GTA GTT ATA CCC				399
Ala Met Thr Asp Met Cys Pro Gly Glu Lys Arg Lys Val Val Ile Pro				
95	100	105	110	
CCT TCA TTT GCA TAC GGA AAG GAA GGC TAT GAT AAA CCT CTA CTT GCA				447
Pro Ser Phe Ala Tyr Gly Lys Glu Gly Tyr Asp Lys Pro Leu Leu Ala				
115	120	125		
AAG GGA ATT TGAAAAAGAT GAGAAGCCAC GTGACAAGTC ATATCAGGAT GCAG				500
Lys Gly Ile				
TTTTAGAAGA TATTTTAAAG AAGAATGACC ATGATGGTGA TGGCTTCATT TCTCCCAAGG				560
AATACAATGT ATACCAACAC GATGAACTAT AGCATATTTG TATTTCTACT TTTTTTTTAA				620
GCTATTTACT GTACTTTATG TATAAAACAA AGTCACTTTT CTCCAAGTTG TATTTGCTAT				680
TTTTCCCCTA TGAGAAGATA TTTTGATCTC CCCAATACAT TGATTTTGGT ATAATAAAAT				740
GTGAGGCTGT TTTGCAAAC T				761

【0080】

配列番号：16

配列の長さ：701

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：胃癌

クローン名：HP01512

配列の特徴：

特徴を表す記号：CDS

存在位置：46..453

特徴を決定した方法：E

配列

CAGAGCGGAG GGGGCTCGGG AGAGGAGTGG ACGCCGCTGG CCAGG ATG GTG CTG GAG	57
Met Val Leu Glu	
1	
AGC GTG GCC CGT ATC GTG AAG GTG CAG CTC CCT GCA TAT CTG AAG CGG	105
Ser Val Ala Arg Ile Val Lys Val Gln Leu Pro Ala Tyr Leu Lys Arg	
5 10 15 20	
CTC CCA GTC CCT GAA AGC ATT ACC GGG TTC GCT AGG CTC ACA GTT TCA	153
Leu Pro Val Pro Glu Ser Ile Thr Gly Phe Ala Arg Leu Thr Val Ser	
25 30 35	
GAA TGG CTT CGG TTA TTG CCT TTC CTT GGT GTA CTC GCA CTT CTT GGC	201
Glu Trp Leu Arg Leu Leu Pro Phe Leu Gly Val Leu Ala Leu Leu Gly	
40 45 50	
TAC CTT GCA GTT CGT CCA TTC CTC CCG AAG AAG AAA CAA CAG AAG GAT	249
Tyr Leu Ala Val Arg Pro Phe Leu Pro Lys Lys Lys Gln Gln Lys Asp	
55 60 65	

AGC TTG ATT AAT CTT AAA ATA CAA AAG GAA AAT CCG AAA GTA GTG AAT	297
Ser Leu Ile Asn Leu Lys Ile Gln Lys Glu Asn Pro Lys Val Val Asn	
70 75 80	
GAA ATA AAC ATT GAA GAT TTG TGT CTT ACT AAA GCA GCT TAT TGT AGG	345
Glu Ile Asn Ile Glu Asp Leu Cys Leu Thr Lys Ala Ala Tyr Cys Arg	
85 90 95 100	
TGT TGG CGT TCT AAA ACG TTT CCT GCC TGC GAT GGT TCA CAT AAT AAA	393
Cys Trp Arg Ser Lys Thr Phe Pro Ala Cys Asp Gly Ser His Asn Lys	
105 110 115	
CAC AAT GAA TTG ACA GGA GAT AAT GTG GGT CCA CTA ATA CTG AAG AAG	441
His Asn Glu Leu Thr Gly Asp Asn Val Gly Pro Leu Ile Leu Lys Lys	
120 125 130	
AAA GAA GTA TAATAATAAT AACAATATTT TCTCATTCTT TGTGTATAGA	490
Lys Glu Val	
135	
AAATTTTAAA ATGGTGGTCT TAATTATTAC TACTGGTTGA ACAATTATTT CTCCAATTT	550
ATTTTCTTCC TGCACTACTG TTTGTATTTG ATCCTTTGTC TATTCAGTCA CTTAATTAGA	610
AATTAAATTG TCAAGCCTCT TATTCTGACT TCAAAGAATT AATGTATCTT CCAACAATAA	670
AATCACTTCT GATTTTAATC TAGGAAAACC T	701

【0081】

配列番号：17

配列の長さ：393

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ＝サピエンス

細胞の種類：骨肉腫

セルライン : S a o s - 2

クローン名 : H P 0 2 0 8 0

配列の特徴 :

特徴を表す記号 : C D S

存在位置 : 8 1 . . 3 2 0

特徴を決定した方法 : E

配列

TCATCGGGCC GCGAGCGCCC TCCCCGTCGT TTTCCGTGAG AGACGTAGAG CTGAGCGACC	60
CAGCCCGCGA GCGAGGTGAG ATG CCG GTG GCC GTG GGT CCC TAC GGA CAG TCC	113
Met Pro Val Ala Val Gly Pro Tyr Gly Gln Ser	
1 5 10	
CAG CCA AGC TGC TTC GAC CGT GTC AAA ATG GGC TTC GTG ATG GGT TGC	161
Gln Pro Ser Cys Phe Asp Arg Val Lys Met Gly Phe Val Met Gly Cys	
15 20 25	
GCC GTG GGC ATG GCG GCC GGG GCG CTC TTC GGC ACC TTT TCC TGT CTC	209
Ala Val Gly Met Ala Ala Gly Ala Leu Phe Gly Thr Phe Ser Cys Leu	
30 35 40	
AGG ATC GGA ATG CGG GGT CGA GAG CTG ATG GGC GGC ATT GGG AAA ACC	257
Arg Ile Gly Met Arg Gly Arg Glu Leu Met Gly Gly Ile Gly Lys Thr	
45 50 55	
ATG ATG CAG AGT GGC GGC ACC TTT GGC ACA TTC ATG GCC ATT GGG ATG	305
Met Met Gln Ser Gly Gly Thr Phe Gly Thr Phe Met Ala Ile Gly Met	
60 65 70 75	
GGC ATC CGA TGC TAACCATGGT TGCCAACTAC ATCTGTCCCT TCC	350
Gly Ile Arg Cys	
GGC ATC CGA TGC TAACCATGGT TGCCAACTAC ATCTGTCCCT TCCCATCAAT CCC	360
Gly Ile Arg Cys	
AGCCCATGTA CTAATAAAAG AAAGTCTTTG AGT	393
【 0 0 8 2 】	

配列番号：18

配列の長さ：1033

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：胃癌

クローン名：HP02239

配列の特徴：

特徴を表す記号：CDS

存在位置：48...482

特徴を決定した方法：E

配列

CTTTCTCCGC TGGCAACGGC GCCGCTCCCC GCTCCTCCTC CCCAGCC ATG GCG TTC	56
Met Ala Phe	
1	
ACG TTC GCG GCC TTC TGC TAC ATG CTG GCG CTG CTG CTC ACT GCC GCG	104
Thr Phe Ala Ala Phe Cys Tyr Met Leu Ala Leu Leu Leu Thr Ala Ala	
5 10 15	
CTC ATC TTC TTC GCC ATT TGG CAC ATT ATA GCA TTT GAT GAG CTG AAG	152
Leu Ile Phe Phe Ala Ile Trp His Ile Ile Ala Phe Asp Glu Leu Lys	
20 25 30 35	
ACT GAT TAC AAG AAT CCT ATA GAC CAG TGT AAT ACC CTG AAT CCC CTT	200
Thr Asp Tyr Lys Asn Pro Ile Asp Gln Cys Asn Thr Leu Asn Pro Leu	
40 45 50	
GTA CTC CCA GAG TAC CTC ATC CAC GCT TTC TTC TGT GTC ATG TTT CTT	248
Val Leu Pro Glu Tyr Leu Ile His Ala Phe Phe Cys Val Met Phe Leu	

55	60	65	
TGT GCA GCA GAG TGG CTT ACA CTG GGT CTC AAT ATG CCC CTC TTG GCA			296
Cys Ala Ala Glu Trp Leu Thr Leu Gly Leu Asn Met Pro Leu Leu Ala			
70	75	80	
TAT CAT ATT TGG AGG TAT ATG AGT AGA CCA GTG ATG AGT GGC CCA GGA			344
Tyr His Ile Trp Arg Tyr Met Ser Arg Pro Val Met Ser Gly Pro Gly			
85	90	95	
CTC TAT GAC CCT ACA ACC ATC ATG AAT GCA GAT ATT CTA GCA TAT TGT			392
Leu Tyr Asp Pro Thr Thr Ile Met Asn Ala Asp Ile Leu Ala Tyr Cys			
100	105	110	115
CAG AAG GAA GGA TGG TGC AAA TTA GCT TTT TAT CTT CTA GCA TTT TTT			440
Gln Lys Glu Gly Trp Cys Lys Leu Ala Phe Tyr Leu Leu Ala Phe Phe			
120	125	130	
TAC TAC CTA TAT GGC ATG ATC TAT GTT TTG GTG AGC TCT TAGAACAACA C			490
Tyr Tyr Leu Tyr Gly Met Ile Tyr Val Leu Val Ser Ser			
135	140		
ACAGAAGAAT TGGTCCAGTT AAGTGCATGC AAAAAGCCAC CAAATGAAGG GATTCTATCC			550
AGCAAGATCC TGTCCAAGAG TAGCCTGTGG AATCTGATCA GTTACTTTAA AAAATGACTC			610
CTTATTTTTT AAATGTTTCC ACATTTTTGC TTGTGGAAAG ACTGTTTTCA TATGTTATAC			670
TCAGATAAAG ATTTTAAATG GTATTACGTA TAAATTAATA TAAAATGATT ACCTCTGGTG			730
TTGACAGGTT TGAACCTGCA CTTCTTAAGG AACAGCCATA ATCCTCTGAA TGATGCATTA			790
ATTACTGACT GTCCTAGTAC ATTGGAAGCT TTTGTTTATA GGAACCTGTA GGGCTCATTT			850
TGGTTTCATT GAAACAGTAT CTAATTATAA ATTAGCTGTA GATATCAGGT GCTTCTGATG			910
AAGTGAAAAT GTATATCTGA CTAGTGGGAA ACTTCATGGG TTTCTCATC TGTCATGTCG			970
ATGATTATAT ATGGATACAT TTACAAAAAT AAAAAGCGGG AATTTTCCCT TCGCTTGAAT			1030
ATT			1033

【0083】

配列番号：19

配列の長さ：1270

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：リンホーマ

セルライン：U937

クローン名：HP02375

配列の特徴：

特徴を表す記号：CDS

存在位置：86..934

特徴を決定した方法：E

配列

```

CCCCGCCCCA ACCCGCGCG TGCGCGTGCG CAGGGATAAG AGAGCGGTCT GGACAGCGCG      60
TGGCCGGCGC CGCTGTGGGG ACAGC ATG AGC GGC GGT TGG ATG GCG CAG GTT      112
          Met Ser Gly Gly Trp Met Ala Gln Val
                1                5

GGA GCG TGG CGA ACA GGG GCT CTG GGC CTG GCG CTG CTG CTG CTC      160
Gly Ala Trp Arg Thr Gly Ala Leu Gly Leu Ala Leu Leu Leu Leu
    10                15                20                25

GGC CTC GGA CTA GGC CTG GAG GCC GCC GCG AGC CCG CTT TCC ACC CCG      208
Gly Leu Gly Leu Gly Leu Glu Ala Ala Ala Ser Pro Leu Ser Thr Pro
                30                35                40

ACC TCT GCC CAG GCC GCA GGC CCC AGC TCA GGC TCG TGC CCA CCC ACC      256
Thr Ser Ala Gln Ala Ala Gly Pro Ser Ser Gly Ser Cys Pro Pro Thr
                45                50                55

AAG TTC CAG TGC CGC ACC AGT GGC TTA TGC GTG CCC CTC ACC TGG CGC      304
Lys Phe Gln Cys Arg Thr Ser Gly Leu Cys Val Pro Leu Thr Trp Arg

```

60	65	70	
TGC GAC AGG GAC TTG GAC TGC AGC GAT GGC AGC GAT GAG GAG GAG TGC			352
Cys Asp Arg Asp Leu Asp Cys Ser Asp Gly Ser Asp Glu Glu Glu Cys			
75	80	85	
AGG ATT GAG CCA TGT ACC CAG AAA GGG CAA TGC CCA CCG CCC CCT GGC			400
Arg Ile Glu Pro Cys Thr Gln Lys Gly Gln Cys Pro Pro Pro Pro Gly			
90	95	100	105
CTC CCC TGC CCC TGC ACC GGC GTC AGT GAC TGC TCT GGG GGA ACT GAC			448
Leu Pro Cys Pro Cys Thr Gly Val Ser Asp Cys Ser Gly Gly Thr Asp			
110	115	120	
AAG AAA CTG CGC AAC TGC AGC CGC CTG GCC TGC CTA GCA GGC GAG CTC			496
Lys Lys Leu Arg Asn Cys Ser Arg Leu Ala Cys Leu Ala Gly Glu Leu			
125	130	135	
CGT TGC ACG CTG AGC GAT GAC TGC ATT CCA CTC ACG TGG CGC TGC GAC			544
Arg Cys Thr Leu Ser Asp Asp Cys Ile Pro Leu Thr Trp Arg Cys Asp			
140	145	150	
GGC CAC CCA GAC TGT CCC GAC TCC AGC GAC GAG CTC GGC TGT GGA ACC			592
Gly His Pro Asp Cys Pro Asp Ser Ser Asp Glu Leu Gly Cys Gly Thr			
155	160	165	
AAT GAG ATC CTC CCG GAA GGG GAT GCC ACA ACC ATG GGG CCC CCT GTG			640
Asn Glu Ile Leu Pro Glu Gly Asp Ala Thr Thr Met Gly Pro Pro Val			
170	175	180	185
ACC CTG GAG AGT GTC ACC TCT CTC AGG AAT GCC ACA ACC ATG GGG CCC			688
Thr Leu Glu Ser Val Thr Ser Leu Arg Asn Ala Thr Thr Met Gly Pro			
190	195	200	
CCT GTG ACC CTG GAG AGT GTC CCC TCT GTC GGG AAT GCC ACA TCC TCC			736
Pro Val Thr Leu Glu Ser Val Pro Ser Val Gly Asn Ala Thr Ser Ser			
205	210	215	
TCT GCC GGA GAC CAG TCT GGA AGC CCA ACT GCC TAT GGG GTT ATT GCA			784

Ser Ala Gly Asp Gln Ser Gly Ser Pro Thr Ala Tyr Gly Val Ile Ala
 220 225 230
 GCT GCT GCG GTG CTC AGT GCA AGC CTG GTC ACC GCC ACC CTC CTC CTT 832
 Ala Ala Ala Val Leu Ser Ala Ser Leu Val Thr Ala Thr Leu Leu Leu
 235 240 245
 TTG TCC TGG CTC CGA GCC CAG GAG CGC CTC CGC CCA CTG GGG TTA CTG 880
 Leu Ser Trp Leu Arg Ala Gln Glu Arg Leu Arg Pro Leu Gly Leu Leu
 250 255 260 265
 GTG GCC ATG AAG GAG TCC CTG CTG CTG TCA GAA CAG AAG ACC TCG CTG 928
 Val Ala Met Lys Glu Ser Leu Leu Leu Ser Glu Gln Lys Thr Ser Leu
 270 275 280
 CCC TGAGGACAAG CACTTGCCAC CACCGTCACT CAGCCCTGGG CGTAGCCGG 980
 Pro

 ACAGGAGGAG AGCAGTGATG CGGATGGGTA CCCGGGCACA CCAGCCCTCA GAGACCTGAG 1040
 CTCTTCTGGC CACGTGGAAC CTCGAACCCG AGCTCCTGCA GAAGTGGCCC TGGAGATTGA 1100
 GGGTCCCTGG ACACTCCCTA TGGAGATCCG GGGAGCTAGG ATGGGGAACC TGCCACAGCC 1160
 AGAACTGAGG GGCTGGCCCC AGGCAGCTCC CAGGGGGTAG AACGGCCCTG TGCTTAAGAC 1220
 ACTCCTGCTG CCCCCTCTGA GGGTGGCGAT TAAAGTTGCT TCACATCCTC 1270

【0084】

配列番号：20

配列の長さ：836

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：肝臓

クローン名: HP10517

配列の特徴:

特徴を表す記号: CDS

存在位置: 164...466

特徴を決定した方法: E

配列

AAAAAAAAAGG AAATGACGAA GGCAGAGGGC GTCCAGGTCC GCTCGGTAAC CGTTTCCCGC	60
GCGCCCGGCC CCGACTCCGG GGTAAGAGC CCCGGAGCGG AGCAGCGCTG GCCGCGTGCC	120
GCCTCCGGAG CCGGCAGCCC CCATGGCTGG GGGTTATGGA GTG ATG GGT GAC GAT	175
Met Gly Asp Asp	
1	
GGT TCT ATT GAT TAT ACT GTT CAC GAA GCC TGG AAT GAA GCC ACC AAT	223
Gly Ser Ile Asp Tyr Thr Val His Glu Ala Trp Asn Glu Ala Thr Asn	
5 10 15 20	
GTT TAC TTG ATA GTT ATC CTT GTT AGC TTC GGT CTC TTC ATG TAT GCC	271
Val Tyr Leu Ile Val Ile Leu Val Ser Phe Gly Leu Phe Met Tyr Ala	
25 30 35	
AAA AGG AAC AAA AGG AGA ATT ATG AGG ATA TTC AGT GTG CCA CCT ACA	319
Lys Arg Asn Lys Arg Arg Ile Met Arg Ile Phe Ser Val Pro Pro Thr	
40 45 50	
GAG GAA ACT TTG TCA GAG CCC AAC TTT TAT GAC ACG ATA AGC AAG ATT	367
Glu Glu Thr Leu Ser Glu Pro Asn Phe Tyr Asp Thr Ile Ser Lys Ile	
55 60 65	
CGT TTA AGA CAA CAA CTG GAA ATG TAT TCC ATT TCA AGA AAG TAC GAC	415
Arg Leu Arg Gln Gln Leu Glu Met Tyr Ser Ile Ser Arg Lys Tyr Asp	
70 75 80	
TAT CAG CAG CCA CAA AAC CAA GCT GAC AGT GTG CAA CTC TCA TTG GAA	463
Tyr Gln Gln Pro Gln Asn Gln Ala Asp Ser Val Gln Leu Ser Leu Glu	
85 90 95 100	

TGAAACC TCAGAAAAAG AGCAACAGAA GTAATTGTTT CAAGCTCCTG ATTCTTTCTA	520
CTAAATCATG AACAGCTTTA AAAACATTTC TGTCTGCATA AAATTATTTT ACTTGTAAC	580
TTTCCCCAAT TGTCTGTGC ATTGTTTGC CTTTTAAAT TACATCTCCA AGTGGCTCAA	640
AAGGCCTTGA CACAGGGAAC CTGCACATAT CCAGGATATG TGTAACCAGC GATGGTGA	700
TGACCTTGCC AAGACCTGTG ATTCCTTCAG GATACAATCA GTGAGAAATA AAAACACATC	760
TTGGGAAGTG GGAATCCTGG AGTTTATGCC ATTTGCAATA TAAAAAATA AAAATGCAAG	820
TTATTATTC AATAAT	836

【0085】

配列番号：21

配列の長さ：1022

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源：

生物名：ホモ=サピエンス

細胞の種類：肝臓

クローン名：HP10521

配列の特徴：

特徴を表す記号：CDS

存在位置：56...733

特徴を決定した方法：E

配列

AGCCCTCCCG CCGCCGCTC GCAGGTCCCG AGGAGCGCAG ACTGTGTCCC TGACA ATG	58
---	----

Met

1

GGA ACA GCC GAC AGT GAT GAG ATG GCC CCG GAG GCC CCA CAG CAC ACC	106
---	-----

Gly Thr Ala Asp Ser Asp Glu Met Ala Pro Glu Ala Pro Gln His Thr

5

10

15

CAC ATC GAT GTG CAC ATC CAC CAG GAG TCT GCC CTG GCC AAG CTC CTG	154
His Ile Asp Val His Ile His Gln Glu Ser Ala Leu Ala Lys Leu Leu	
20 25 30	
CTC ACC TGC TGC TCT GCG CTG CGG CCC CGG GCC ACC CAG GCC AGG GGC	202
Leu Thr Cys Cys Ser Ala Leu Arg Pro Arg Ala Thr Gln Ala Arg Gly	
35 40 45	
AGC AGC CGG CTG CTG GTG GCC TCG TGG GTG ATG CAG ATC GTG CTG GGG	250
Ser Ser Arg Leu Leu Val Ala Ser Trp Val Met Gln Ile Val Leu Gly	
50 55 60 65	
ATC TTG AGT GCA GTC CTA GGA GGA TTT TTC TAC ATC CGC GAC TAC ACC	298
Ile Leu Ser Ala Val Leu Gly Gly Phe Phe Tyr Ile Arg Asp Tyr Thr	
70 75 80	
CTC CTC GTC ACC TCG GGA GCT GCC ATC TGG ACA GGG GCT GTG GCT GTG	346
Leu Leu Val Thr Ser Gly Ala Ala Ile Trp Thr Gly Ala Val Ala Val	
85 90 95	
CTG GCT GGA GCT GCT GCC TTC ATT TAC GAG AAA CGG GGT GGT ACA TAC	394
Leu Ala Gly Ala Ala Ala Phe Ile Tyr Glu Lys Arg Gly Gly Thr Tyr	
100 105 110	
TGG GCC CTG CTG AGG ACT CTG CTA GCG CTG GCA GCT TTC TCC ACA GCC	442
Trp Ala Leu Leu Arg Thr Leu Leu Ala Leu Ala Ala Phe Ser Thr Ala	
115 120 125	
ATC GCT GCC CTC AAA CTT TGG AAT GAA GAT TTC CGA TAT GGC TAC TCT	490
Ile Ala Ala Leu Lys Leu Trp Asn Glu Asp Phe Arg Tyr Gly Tyr Ser	
130 135 140 145	
TAT TAC AAC AGT GCC TGC CGC ATC TCC AGC TCG AGT GAC TGG AAC ACT	538
Tyr Tyr Asn Ser Ala Cys Arg Ile Ser Ser Ser Ser Asp Trp Asn Thr	
150 155 160	
CCA GCC CCC ACT CAG AGT CCA GAA GAA GTC AGA AGG CTA CAC CTA TGT	586
Pro Ala Pro Thr Gln Ser Pro Glu Glu Val Arg Arg Leu His Leu Cys	

165	170	175	
ACC TCC TTC ATG GAC ATG CTG AAG GCC TTG TTC AGA ACC CTT CAG GCC			634
Thr Ser Phe Met Asp Met Leu Lys Ala Leu Phe Arg Thr Leu Gln Ala			
180	185	190	
ATG CTC TTG GGT GTC TGG ATT CTG CTG CTT CTG GCA TCT CTG GCC CCT			682
Met Leu Leu Gly Val Trp Ile Leu Leu Leu Leu Ala Ser Leu Ala Pro			
195	200	205	
CTG TGG CTG TAC TGC TGG AGA ATG TTC CCA ACC AAA GGG GTG AGT CCC			730
Leu Trp Leu Tyr Cys Trp Arg Met Phe Pro Thr Lys Gly Val Ser Pro			
210	215	220	225
TAAGAAAAGA GACCAGAAGG AAATGTTGGA AGTGAGTGGA ATCTAGCCAT GCCTCTCCTG			790
ATTATTAGTG CCTGGTGCTT CTGCACCGGG CGTCCCTGCA TCTGACTGCT GGAAGAAGAA			850
CCAGACTGAG GAAAAGAGGC TCTTCAACAG CCCAGTTAT CCTGGCCCCA TGACCGTGGC			910
CACAGCCCTG CTCCAGCAGC ACTTGCCCAT TCCTTACACC CCTTCCCCAT CCTGCTCCGC			970
TTCATGTCCC CTCCTGAGTA GTCATGTGAT AATAAACTCT CATGTTATTG TT			1022

【図面の簡単な説明】

【図1】 クローンHP01434がコードする蛋白質の疎水性／親水性プロファイルを示す図である。

【図2】 クローンHP01512がコードする蛋白質の疎水性／親水性プロファイルを示す図である。

【図3】 クローンHP02080がコードする蛋白質の疎水性／親水性プロファイルを示す図である。

【図4】 クローンHP02239がコードする蛋白質の疎水性／親水性プロファイルを示す図である。

【図5】 クローンHP02375がコードする蛋白質の疎水性／親水性プロファイルを示す図である。

【図6】 クローンHP10517がコードする蛋白質の疎水性／親水性プロファイルを示す図である。

【図7】 クローンHP10521がコードする蛋白質の疎水性／親水性プロフ

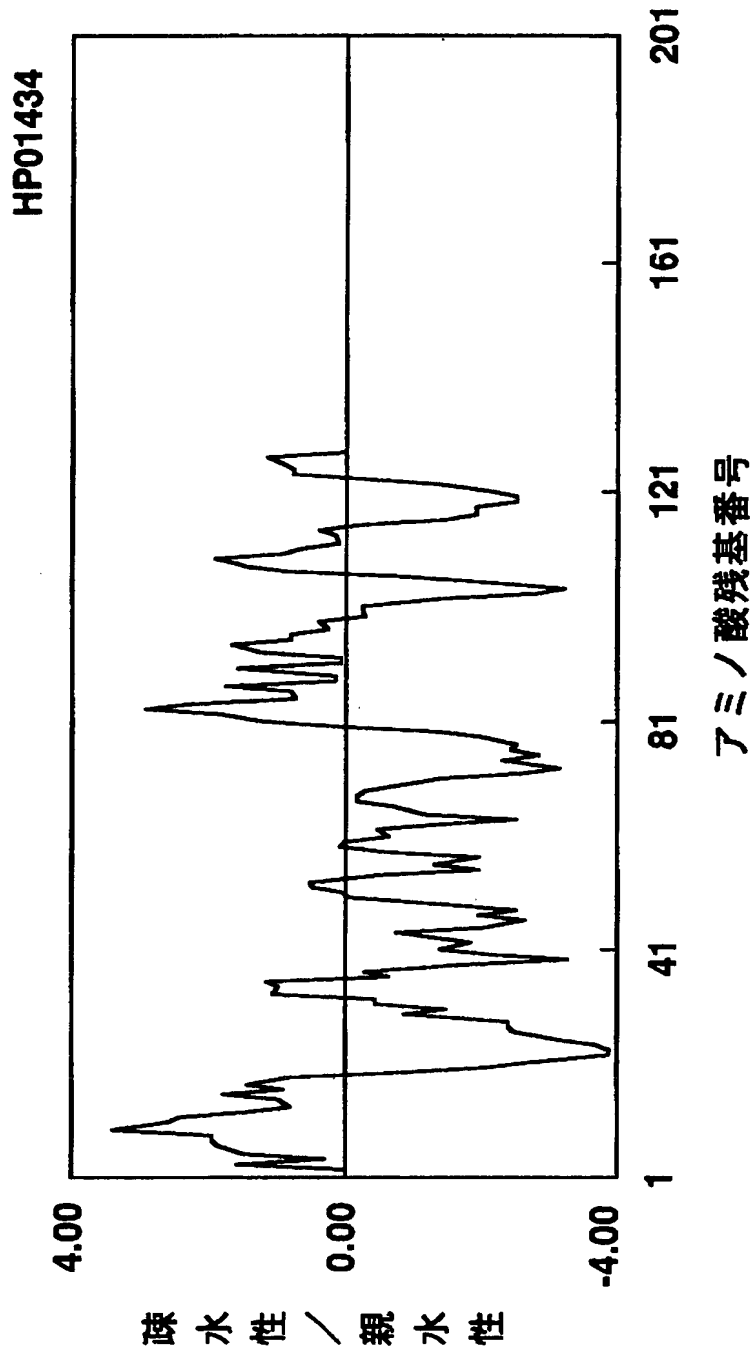
特平 10-046607

ィールを示す図である。

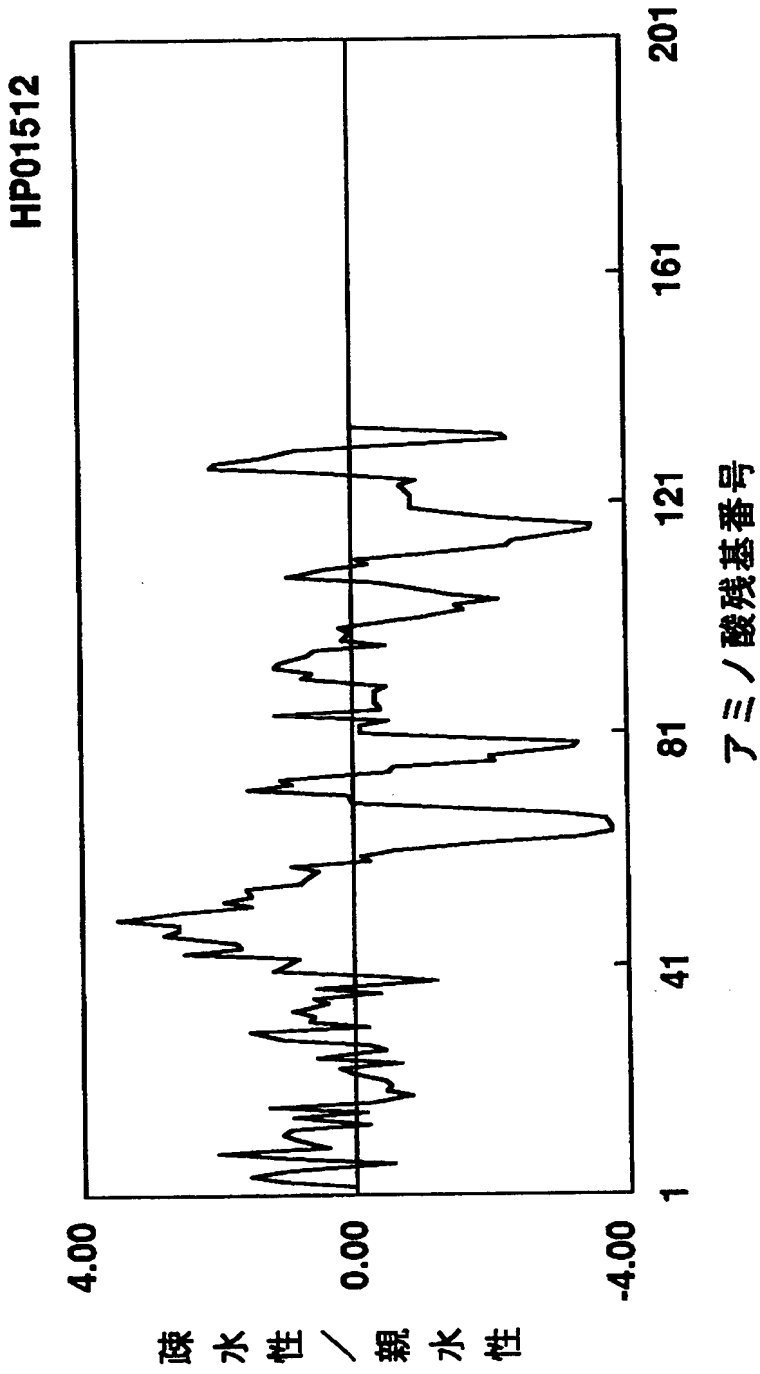
【書類名】

図面

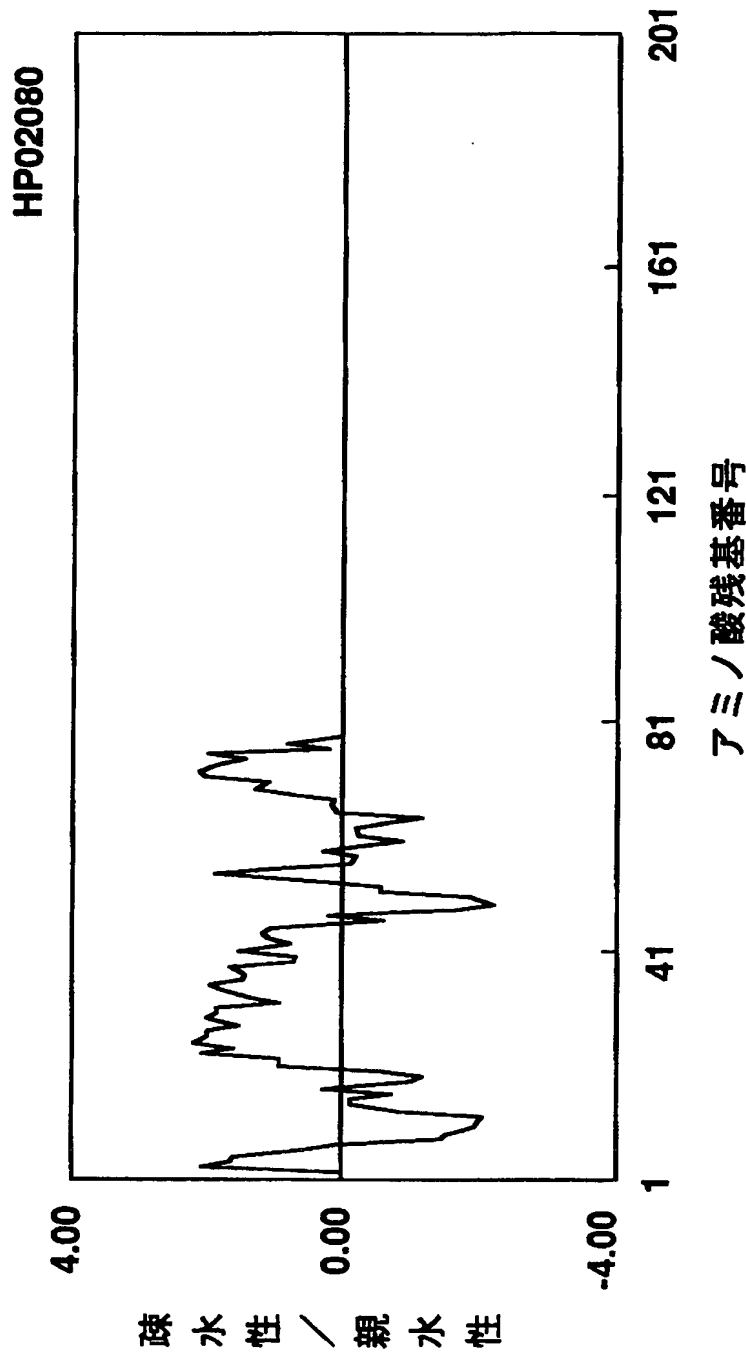
【図1】



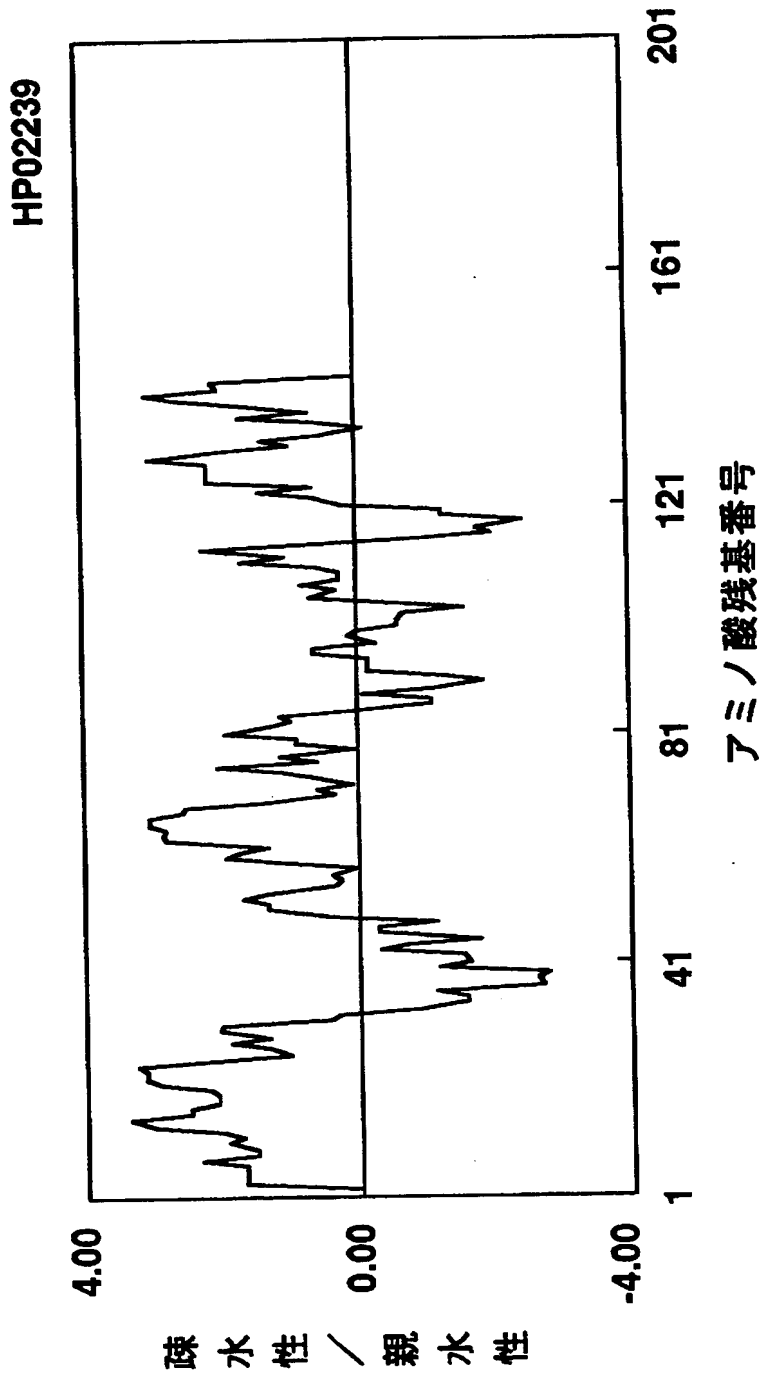
【図 2】



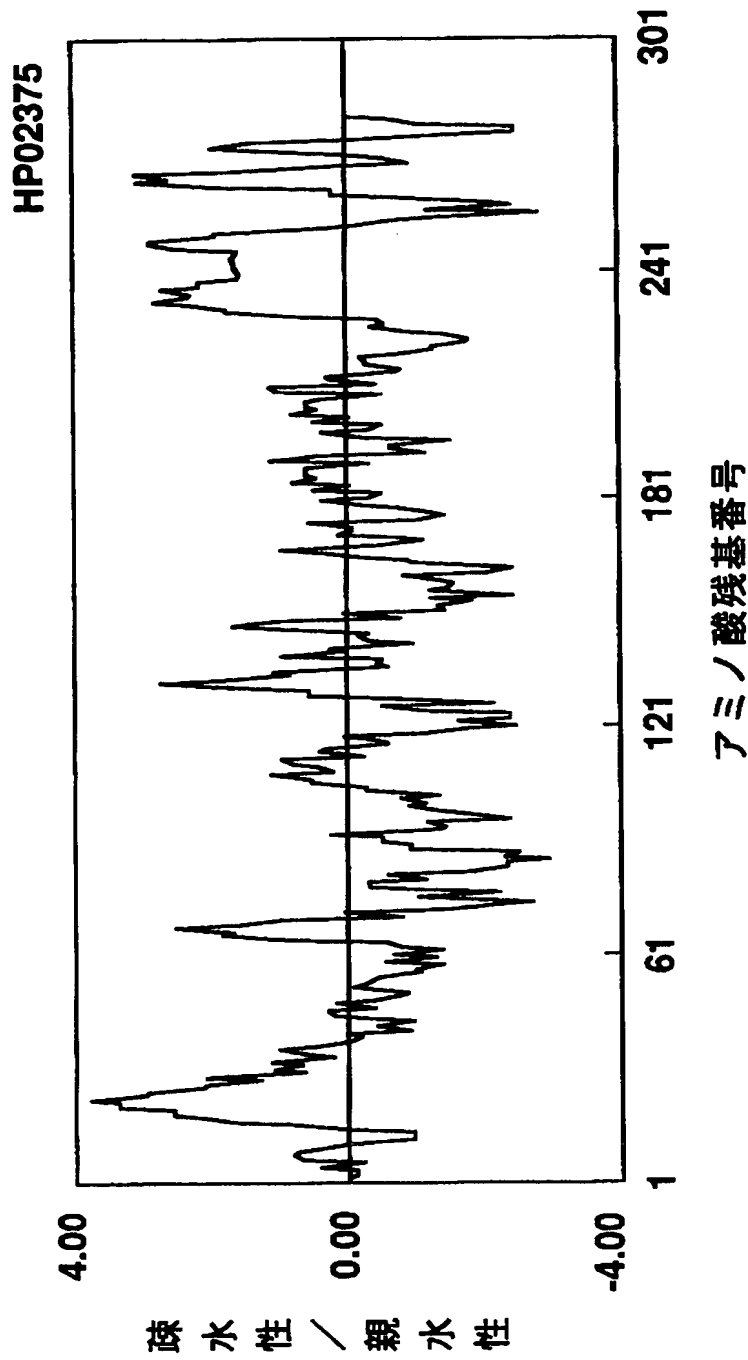
【図3】



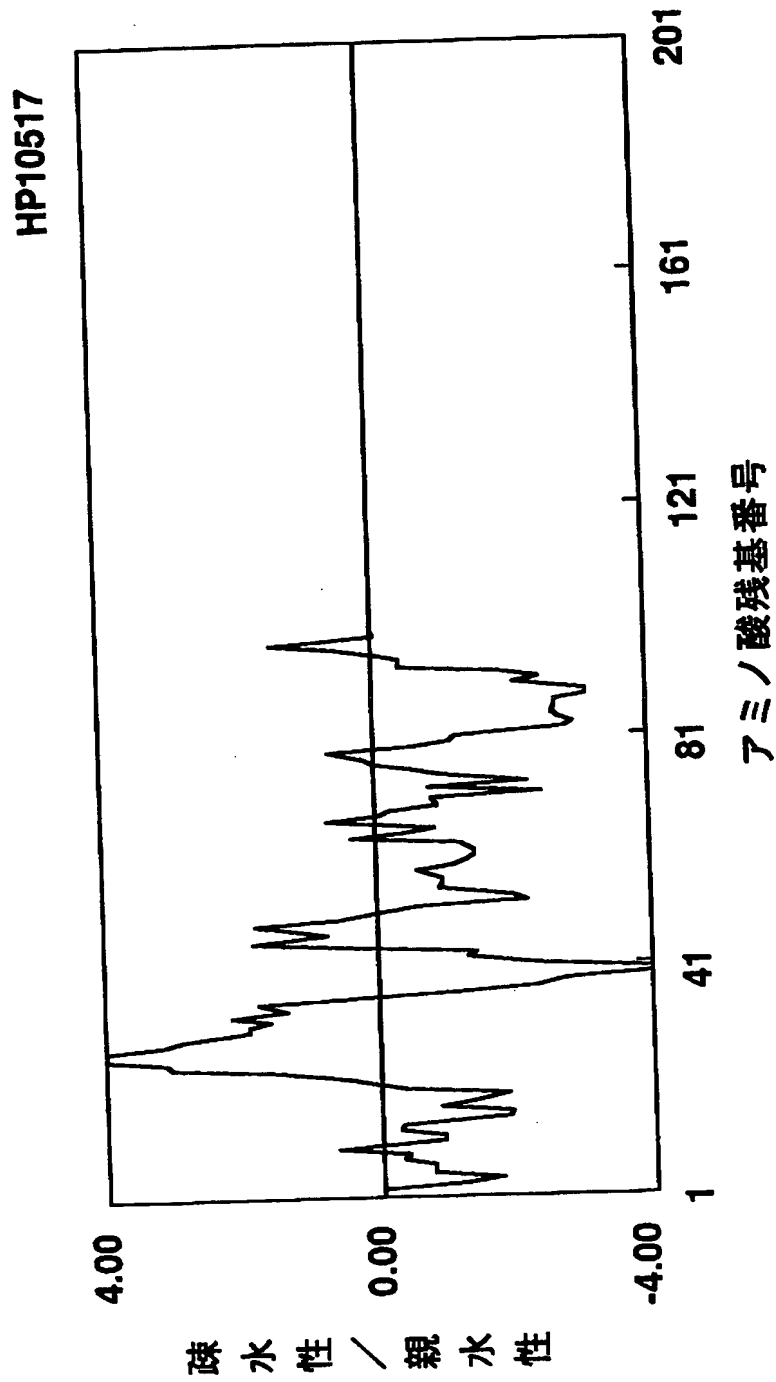
【図4】



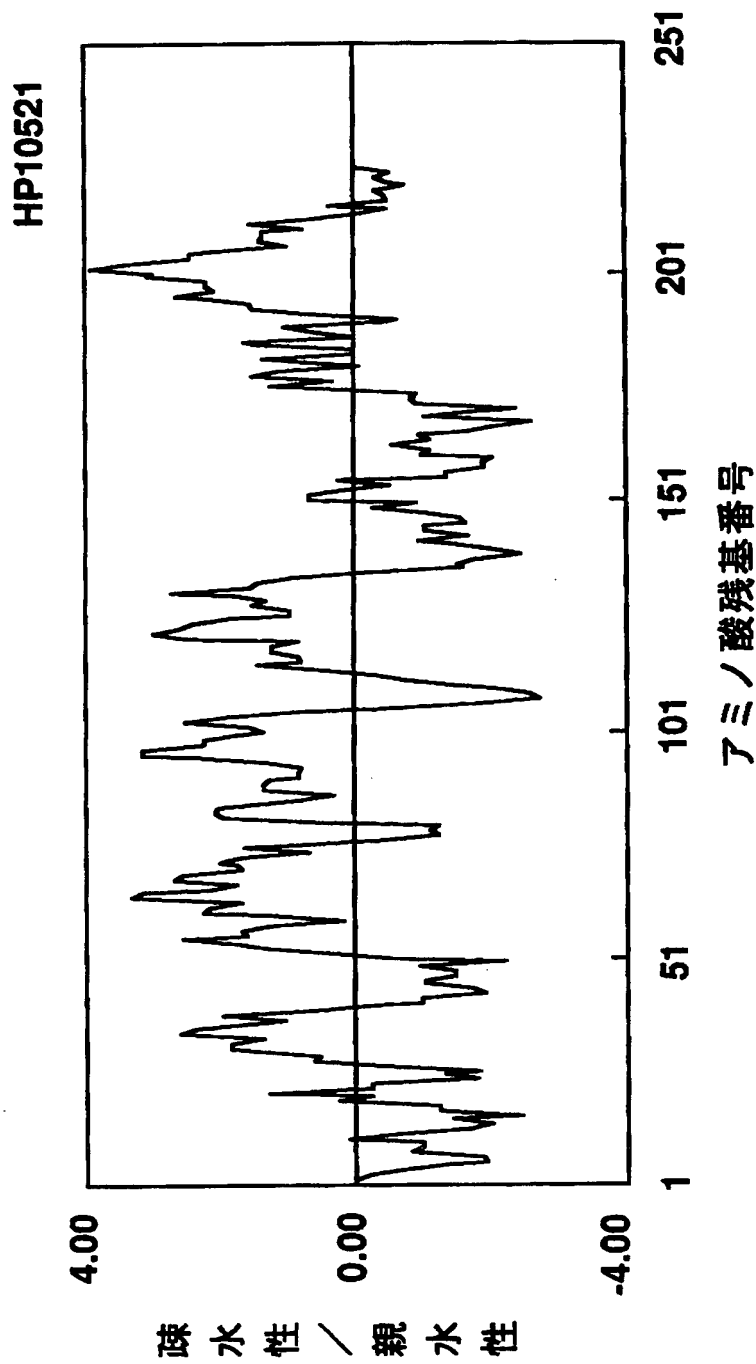
【図5】



【図 6】



【図7】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 膜貫通ドメインを有するヒト蛋白質、それをコードしている cDNA、該 cDNA の発現ベクター、および該 cDNA を発現させた真核細胞を提供する。

【解決手段】 配列番号 1 から配列番号 7 で表されるアミノ酸配列のいずれかを含む蛋白質、該蛋白質をコードする DNA、例えば配列番号 8 から配列番号 14 で表される塩基配列を含む cDNA、該 cDNA の発現ベクター、および該 cDNA を発現させた真核細胞。膜貫通ドメインを有するヒト蛋白質をコードしている cDNA、およびこのヒト cDNA の組換え体を発現させることにより該蛋白質ならびに該蛋白質を膜表面に有する真核細胞を提供することができる。

【選択図】 なし

【書類名】
【訂正書類】

職権訂正データ
特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

申請人

【識別番号】

000173762

【住所又は居所】

神奈川県相模原市西大沼4丁目4番1号

【氏名又は名称】

財団法人相模中央化学研究所

【特許出願人】

【識別番号】

596134998

【住所又は居所】

東京都目黒区中町2丁目20番3号

【氏名又は名称】

株式会社プロテジーン

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[596134998]

1. 変更年月日	1996年 9月13日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都目黒区中町2丁目20番3号
氏 名	株式会社プロテジーン